

München, 1960.

Karyometrische Untersuchungen
über den Einfluß einiger Wirkstoffe
auf die Interstitialzellen von Gonaden

Otto Kronthaler

Aus dem Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere
der Universität München

Vorstand: Professor Dr. Dr. Johs. Brüggemann

KARYOMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DEN EINFLUSS EINIGER WIRKSTOFFE
AUF DIE INTERSTITIALZELLEN VON GONADEN

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Otto Kronthaler

aus München

München 1960

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. K. Zipf

Referent: Professor Dr. Dr. Johs. Brüggemann

Tag der Promotion: 26. 2. 60

MEINEN ELTERN



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. VORBEMERKUNG	1
II. EINLEITUNG (Literaturbesprechung)	2
1. Zur Morphologie der Gonaden	2
2. Die Gonaden im endokrinen System	4
3. Zur Morphokinese der interstitiellen Zellen der Gonaden, Wirkung von gonadotropen und sexogenen Hormonen	6
4. Beziehungen zwischen Vitamin E und Gonaden	9
5. Beziehungen zwischen Vitamin A und Gonaden	12
6. Zur Frage des Einflusses von Aureomycin auf die Gonaden	14
7. Zur Wirkung von Cortison auf die Gonaden	15
III. METHODIK	17
1. Versuchstiere, Haltung und Fütterung	17
2. Angewandte Präparate	18
3. Tötung, Präparation und histologische Technik	18
4. Karyometrische Auswertung	20
IV. VERSUCHE UND ERGEBNISSE	25
A. Versuche mit Sexualhormonen	25
B. Versuche mit den Vitaminen A und E	33
C. Versuch mit Chlortetracyclin und Cortison	37
V. DISKUSSION	41
VI. ZUSAMMENFASSUNG	43
VII. LITERATURVERZEICHNIS	45



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554020_0045

I. VORBEMERKUNG

Wirkstoffe, wie zum Beispiel Vitamine, Hormone und Antibiotica fanden in den letzten Jahren in zunehmendem Maße Anwendung in Therapie und Ernährung der Haustiere. Es kommen dabei Substanzen zum Einsatz, deren physiologische Auswirkungen - z.T. außerhalb des spezifischen Indikationsbereiches - noch nicht hinreichend bekannt sind. Von besonderem Interesse ist in diesem Zusammenhang eine mögliche Beeinflussung der generativen Organe, also der Keimdrüsen.

Im Rahmen der im Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere der Universität München durchgeführten Untersuchungen über den Einfluß von Wirkstoffen auf endokrine Organe wurde mir die Aufgabe gestellt, die Reaktion der Interstitialzellen weiblicher und männlicher Gonaden nach Verabreichung einiger Hormone (Androgene, Östrogene, Cortison), Vitamine (A und E) sowie nutritiv wirksamer Dosen von Chlortetracyclin mittels quantitativer, karyometrischer Messung zu prüfen.

II. EINLEITUNG

Die Gonaden, auch Keimdrüsen genannt, sind für das Einzelindividuum zwar nicht von lebenswichtiger Bedeutung (siehe Lebensfähigkeit nach Kastration); in ihrer zweifachen Funktion, der Produktion von Keimzellen (exogene Sekretion) und der Bildung von humoralen Wirkstoffen (endogene Sekretion), dienen sie jedoch der Fortpflanzung. Die geschlechtsspezifische Entwicklung eines Organismus und die Funktionstüchtigkeit des Genitalapparates sind von den Sexualhormonen abhängig (1).

1.) Zur Morphologie der Gonaden

Die bei den Säugetieren paarig ausgebildeten Gonaden, lassen im morphologischen Aufbau zwei getrennte Gewebsanteile erkennen: Das Epithel- oder Germinativgewebe einerseits und das Interstitium andererseits.

Im Folgenden sollen, unter besonderer Berücksichtigung der für die überwiegende Mehrzahl der Untersuchungen verwendeten Rattengonaden, einige histologische Daten aufgezeigt werden.

a) Hoden

Eine derbe, aus nicht elastischem Bindegewebe bestehende Kapsel umgibt das unter starkem Druck stehende Hodengewebe. Zentral durchzieht den Hoden in der Längsachse ein Bindegewebsstrang, das Mediastinum testis. Dieses sendet peripher gerichtete Septula aus, die das Hodenparenchym in Lobuli aufteilen.

Das Parenchym stellen die Samenkanälchen und ein zartes, Nerven und Gefäße enthaltendes Bindegewebe, das intralobuläre Bindegewebe dar. In diesem sind die Leydigischen Zwischenzellen zu suchen, die bei Ratten besonders häufig in der Nähe von Gefäßen zu finden sind. Von anderen Zellen sind sie durch ihren rundlichen, bläschenförmigen Kern zu unterscheiden, dessen Chromatin fein verteilt ist und der meist ein bis zwei größere Nucleolen enthält (2).

Die Samenkanälchen sind stark gewundene, verästelte Schläuche von erheblicher Länge. Peripher beginnend verlaufen sie gegen das Mediastinum, wo sie in die ableitenden Samengefäße münden. Die Tubuluswand besteht aus lamellären,

elastische Fasern enthaltendem Bindegewebe. Lumenwärts verdichtet sie sich zur Membrana propria auf der die Epithelzellen (SERTOLI'sche Fußzellen) aufsitzen. Der stark verbreiterte, den Kern enthaltende Basalteil der Fußzellen sendet Zytoplasmafortsätze lumenwärts, zwischen die sich die verschiedenen Entwicklungsstadien der Samenzellen einsenken. Bei der Spermiogenese lassen sich nach ROOSEN-RUNGE (3) acht verschiedene Zwischenstufen unterscheiden.

b) Ovarien

"Infolge der rhythmisch und dauernd ablaufenden Umbauprozesse im keim- und hormonbildenden Ovar ist dies in ständiger, innerer Bewegung und Veränderung seiner Grob- und Feinarchitektur, sodaß es im Eierstock eine feststehende, organspezifische Struktur nicht gibt. Je nach Schnittstelle und Zyklusphase wechselt das histologische Bild außerordentlich" (4).

Grundsätzlich jedoch kann man am Ovar der Ratte eine periphere Zona parenchymatosa und eine zentrale Zona vasculosa erkennen.

Umgeben ist das Ovar von einer Grenzscheide, der Tunica albuginea. Diese besteht wie das Stroma der Rindenschicht aus kollagenen Fasern. Am Hilus durchbricht die Marksubstanz Rinde und Tunica albuginea und tritt an die Oberfläche.

In der sehr zellreichen Zona parenchymatosa laufen alle Umbau- und Regenerationsvorgänge ab, die für den Zyklus wichtig sind. Die in dichten Zügen gelagerten Stromazellen liegen teils parallel zur Oberfläche des Ovars, teils umschließen sie die Eifollikel. In diesen Bindegewebszügen liegen auch die Interstitialzellen, die in ihrer Funktion mit den LEYDIG-Zellen der Hoden verglichen werden (5,6).

Zwischen dem Stroma der Rindenschicht liegen die Eifollikel. Sie erfahren auf dem Wege der Reifung vom Primärfollikel bis zum sprungreifen, GRAAF'schen Follikel starke, zellige Veränderungen.

Gegen die Umgebung ist der Follikel durch eine Theka abgegrenzt. Sie besteht aus zwei Schichten, einer Lamina externa und - interna. Erstere entsteht durch konzentrische Lagerung von Stromafibrozyten um den Follikel, letztere durch Umwandlung von Fibrozyten in Thekazwischenzellen, lipoidal

tige Zellen mit epitheloidem Charakter (7).

Nach der Eiausstoßung fällt der Follikel, der unter starkem Druck stand, zusammen. Seine Wand bildet Falten. Blutungen, die bei der Ovulation auftreten, füllen zunächst die Höhle aus. Während die inneren Lagen der Granulosazellen zerfallen, beginnen die restlichen zusammen mit den Thekazellen zu wuchern. Nach Resorption des Blutgerinsels und der Zelltrümmer füllen sie den Hohlraum aus und werden in Luteinzellen verwandelt (7). Die Luteinisierung verläuft parallel mit der bindegewebigen Organisation und der Vascularisation des Corpus luteum von außen nach innen.

2.) Die Gonaden im endokrinen System

a) Gonaden als Hormondrüsen

Der Hoden ist die wichtigste Bildungsstätte der androgenen Hormone. Ihre Produktion erfolgt kontinuierlich. Als wirksamste Substanz der Androgene gilt das Testosteron. Als Bildungsort sind, wie auch neueste Forschungen zeigen, die LEYDIG'schen Zwischenzellen aufzufassen (8, 9, 10, 11, 12, 13, 14).

Die Androgene sind verantwortlich für die Ausbildung der männlichen Geschlechtsmerkmale und für die Funktion des Genitales.

Wie Untersuchungen von MADDOCK zeigen, findet im Hoden auch eine Bildung von Östrogenen statt. TONUTTI (14) und FORBES (15) glaubten in den SERTOLI Zellen ihre Produktionsstätte gefunden zu haben. Eine Östrogenproduktion in den SERTOLI-Zellen ist aber unklar (16). Mit größerer Wahrscheinlichkeit findet diese ebenfalls in den LEYDIG'schen Zwischenzellen statt. In späteren Untersuchungen konnte sich auch TONUTTI (2) zu dieser Ansicht be-
kennen.

Die Ovarien sind bei weiblichen Ratten die Bildungsstätte für die östrogenen Hormone. Ihre Produktion ist im Rahmen des weiblichen Zyklus periodisch wiederkehrend; sie beherrscht die proliferative Phase. Außerdem sind die Östrogene verantwortlich zu machen für die Ausbildung der weiblichen Geschlechtsmerkmale.

Ein von den Ovarien stammendes Hormon ist das Östradiol. Weitere wichtige

Östrogene sind das Östron und das Östriol. Als eigentliche Östrogenquellen sind die Thekaorgane im Ovar zu bezeichnen (17,5,18). Zu diesen sind nach TO-NUTTI (17) zu rechnen:

- 1.) die Theka interna-Zellen der Sekundärfollikel,
- 2.) die Thekazellen der atretischen Follikel,
- 3.) die Interstitialzellen,
- 4.) das Theka-Luteingewebe des Corpus luteum.

Der Gelbkörper ist die Bildungsstätte eines weiteren Hormones, des Progesterons. Dieses "Gestagen" beherrscht bekanntlich die sekretorische Phase des Zyklus. Es ermöglicht die Nidation der befruchteten Eizelle im Uterus und verhindert das Heranreifen neuer Follikel. Außerdem regt es die Bildung von Laktationsgewebe in der Milchdrüse an.

Das Progesteron wird nach LABHART (16) in den Granulosa-Luteinzellen des Corpus luteum gebildet, während STANLEY-PEDERSON (7) auf Grund seiner histologischen Forschungen die Progesteronbildung auch der Theka interna zuschreibt. Letzteres hält auch ZANDER (19) als sehr wahrscheinlich, da Progesteron bereits im sprungreifen Follikel nachweisbar ist.

Neben den Östrogenen und Gestagenen werden vom Ovar auch androgene Hormone gebildet. SHIPPEL (20) glaubt in den Thekazellen deren Ursprungsstätte gefunden zu haben. Andere (21,22) machen dafür die Hiluszellen verantwortlich.

b) Endokrine Steuerung der Gonaden

Die Keimdrüsen werden, wie alle peripheren Hormondrüsen, vom Hypophysenvorderlappen (HVL) gesteuert. Die Menge des erzeugten Wirkstoffes ist abhängig von der Stimulierung der Gonaden durch die entsprechenden gonadotropen Hormone. Nach HOHLWEG (1) besteht zwischen HVL und peripheren Hormondrüsen eine Wechselbeziehung, derzufolge eine Konstanz in der Produktion gesichert ist. Ein Sinken des Blutspiegels an peripheren Wirkstoffen regt reflektorisch den HVL zur Mehrproduktion an (Prinzip der Kybernetik).

Vom HVL gehen drei spezifisch auf die Gonaden wirkende Stoffe aus:

1. Das Follikel stimulierende Hormon (FSH). Es hat seinen Angriffspunkt im Germinativum der Gonaden (23). Im Hoden bewirkt es die Spermiogenese,

im Eierstock bringt es die Primärfollikel zur Entwicklung bis kurz vor die Ovulationsreife.

2. Als zweites gonadotropes Hormon ist das Luteinisierungshormon (LH), oder das Interstitial Cells Stimulating Hormon (ICSH), maßgeblich an der Bildung von Steroidhormonen in den Keimdrüsen beteiligt; bei männlichen Tieren für die Testosteronerzeugung praktisch ausschließlich (siehe 24). Bei weiblichen Tieren ist FSH notwendig, da die Reifung der Follikel als Voraussetzung für eine Östradiolbildung angesehen wird. Durch Einwirkung von ICSH wird der durch FSH vorgereifte Follikel zum Springen gebracht (25, 26, 27, 28). Darüber hinaus wird die Entstehung des Corpus luteum angeregt. FSH und ICSH veranlassen die Bildung von Östradiol (23).
3. Um die, vom Gelbkörper ausgehende Progesteronbildung anzuregen, ist ein weiteres Stimulans von Seiten der Hypophyse notwendig, das luteotrope Hormon (LTH). Neben der Wirkung auf das Ovar ist LTH auch an der psychischen Entwicklung des Mutterinstinktes beteiligt, ebenso an der Auflösung der Milchsekretion (29, 30)
3. Zur Morphokinese der interstitiellen Zellen der Gonaden, Wirkung von gonadotropen und sexogenen Hormonen

Endokrine Einflüsse sind morphologisch an den sekretorischen Zellen wahrnehmbar. Im speziellen Falle der Gonaden ist die Stimulation durch die gonadotropen Hormone der Hypophyse an den Interstitialzellen des Ovars und den LEYDIG-Zellen des Hodens ersichtlich. Für die Morphokinese dieser Zellen war die quantitative Methode der Kernvolumenmessung von TONUTTI und seiner Schule besonders aufschlußreich und auch für das eigene methodische Vorgehen richtungsweisend.

Bei Untersuchungen MUSCHKE's (31) an hypophysektomierten Rattenmännchen zeigte sich, daß die Volumina der LEYDIG-Kerne erheblich verkleinert waren. Gegenüber gleichzeitigen Normaltieren mit einem Durchschnittsvolumen von $100-120 \mu^3$ wiesen hypophysektomierte Ratten nur ein Volumen von $50-55 \mu^3$ auf. Zur Freieichung dieser Mindestgröße war eine Zeitspanne von 4 Wochen nötig. Weiterhin konnte nachgewiesen werden, daß durch Verabreichung von Choriongonadotropin, einer ICSH-aktiven Substanz, an hypophysektomierte Tiere die veränderten LEYDIG-Zellen wieder zur Entfaltung gebracht werden kön-

nen. Eine Zufuhr von 192 Einheiten Choriongonadotropin bringt in 12 Tagen die LEYDIG-Zellen von hypophysektomierten Ratten wieder zur normalen Größe.

TONUTTI (2) verwendete als Grundlage für seine morphokinetischen Untersuchungen an LEYDIG'schen Zwischenzellen von Ratten Meßwerte von Zellkernen und Plasma. Im Vergleich beider Werte, Plasmastrecke und Kernvolumen, stellte sich heraus, daß beides brauchbare Indikatoren zum Nachweis der Zellaktivität sind. Die Ermittlung des Kernvolumens ergibt jedoch leichter reproduzierbare Werte, sodaß dies als das genauere Verfahren angesehen werden kann.

Durch Ausschaltung der glandotropen Stimulierung mittels Hypophysektomie wurde bei LEYDIG-Kernen wieder eine Regression bis zur Hälfte des Normalvolumens (von gleichwertigen Kontrolltieren) gefunden. Nach 4 Wochen blieb die Volumenabnahme stationär. Eine Stimulierung mit glandotropen Substanzen (1.6 E Choriongonadotropin pro Tag) brachte eine Verdoppelung des Kernvolumens, bezogen auf einen Ausgangswert: 4 Wochen nach Hypophysektomie.

Die Werte der Kernvolumina werden durch die Ergebnisse der Plasmamessung ergänzt. Letztere ergibt langfristig nach Hypophysektomie eine Abnahme um rund 1/10 des Wertes von vergleichbaren Normaltieren. Desgleichen bringt eine Zufuhr von Choriongonadotropin einen Volumenzuwachs. Dieser steigt mit der Erhöhung der Dosis. Bei einer Gabe von 1,5 E pro die wird ein Sättigungsgrad erreicht; auch wesentlich höhere Dosen steigern den Effekt nicht mehr.

Durch diese Untersuchung konnte bewiesen werden, daß Kern und Plasma von einer Stimulierung durch die ICSH-Aktivität der gonadotropen Partialfunktion der Adenohypophyse abhängig sind.

Um genaue Meßwerte über den Unterschied zwischen einem vollkommenen Ausfall der gonadotropen Stimulierung durch Hypophysektomie einerseits und einer Unterbindung derselben durch Zufuhr von peripheren Sexualhormonen andererseits zu erhalten, führte HERCHEN (32) Plasmamessungen durch.

Bei hypophysektomierten Ratten konnte nach 4-6 Wochen eine signifikante Plasmareduktion festgestellt werden. Vergleichbare Normaltiere, 12 Tage mit 0,5 mg Testosteron, bzw. mit 10 μ Östradiol behandelt, zeigten ebenfalls einen Schwund des Zellplasmas. Es wurden aber bei weitem nicht die Werte wie bei Hypophysektomie erreicht.

Aus diesen Versuchen wurde gefolgert, daß eine vollständige Unterdrückung der Hypophysentätigkeit durch exogene Zufuhr von Sexualhormonen nicht erreicht werden kann.

Es sei jedoch auch auf die von KARG (24) diskutierte Möglichkeit hingewiesen, daß exogen zugeführte Sexogene, bei hoher Dosierung und niedrigem Ausgangswert in der Größe der Interstitialzellen, stimulierend auf die Steroid produzierenden Zellen durch Substratangebot wirken könnten.

In dieser Versuchsreihe wurden auch noch durch Plasmamessungen Einblicke in die Zusammenhänge zwischen Dosierung von Choriogonadotropin und Zellentfaltung nach langfristiger Hypophysektomie gewonnen. Es ergab sich ein stetiger Anstieg der Plasmaentfaltung bei einer täglichen Dosis von 0,0 bis 1,5 E. Bei einer täglichen Dosis von 16 E wird das Maximum der Zellentfaltung nach 6 Tagen erreicht. Höhere Dosen bleiben erfolglos.

An den Interstitialzellen von Rattenovarien konnten durch Untersuchungen von FETZER, HILLEBRECHT, MUSCHKE (33) Reaktionen festgestellt werden, die denen der LEYDIG-Zellen gleichen. 4 Wochen nach Hypophysektomie war das Kernvolumen auf 1/3 des Inhaltes, verglichen mit Kontrolltieren, gesunken. 1,5 E pro die einer ICSH-aktiven Substanz entfalteten die Kerne innerhalb von 6 Tagen wieder zur Norm. Dagegen vermochten Dosen von 15 E nur geringe Volumenvergrößerungen gegenüber der Norm zu erzeugen. Dies zeigt, daß sich die Interstitialzellen des normalen Ovars in einem Entfaltungszustand befinden, der nahe am maximalen Differenzierungsniveau liegt. In einer Weiterführung der Untersuchungen am Rattenovar konnten FETZER, HILLEBRECHT, MUSCHKE und TONUTTI (5) Unterschiede der Kernvolumengrößen zwischen Östrus- und Diöstrus-Ratten bemerken. Das könnte (siehe 24) mit der schnellen Folge der FSH- bzw. LH-Maxima innerhalb der verhältnismäßig kurzen Zyklusdauer bei Nagern zu erklären sein. Langfristig hypophysektomierte Tiere wiesen eine Abnahme des Gesamtvolumens bis zu 61 % ($\approx 2/3$) im Vergleich mit Kontrolltieren auf. Weiter ergab sich, daß eine Dämpfung der gonadotropen Aktivität der Hypophyse mit Keimdrüsenhormonen quantitativ nicht vergleichbar mit der Hypophysektomie war. Bei Testosterongaben von 2,5 mg pro Tag trat eine Volumenverringerung um 38 % auf. Östradioldipropionat (1 γ bzw. 5 γ pro die) führten zu nur unbedeutenden Verkleinerungen. Eine Größendifferenz zwischen den beiden Dosierungen war zwar zu bemerken, konnte aber nicht statistisch gesichert werden.

Choriongonadotropin an hypophysektomierte Tiere verabreicht, ergibt bei einer Dosis von 1,0 bis 2,0 E pro die die Normalwerte innerhalb von 7 Tagen. 15 E pro die bringen keine weitere Vergrößerung des Kernvolumens, d.h. daß der Sättigungswert überschritten ist.

Keine meßbaren Werte gegenüber hypophysektomierten Tieren sind zu erkennen bei einer Dosierung von 0,1 E Choriongonadotropin pro Tag.

Um die Frage zu klären, ob die Theka interna Zellen, aus denen die Interstitialzellen entstehen, auch unter dem Einfluß des HVL stehen, wurden von FETZER (6) bei Normaltieren, hypophysektomierten Ratten und bei letzteren nach Stimulierung mit Choriongonadotropin quantitative Messungen angestellt. Die Messungen wurden an Follikeln durchgeführt, die im Größenverhältnis mit den größten Follikeln bei hypophysektomierten Ratten übereinstimmten (Durchmesser um 300 μ).

Aus diesen Versuchen ging hervor, daß zwar ein Einfluß der Hypophyse auf die Theka interna vorhanden ist, jedoch im wesentlich geringeren Maße als auf die Interstitialzellen. Nach Auffassung von FETZER (6) erfahren demnach die Thekazellen ihre volle Differenzierung erst nach Auflösung der Follikelorganisation. Natürlich ist damit keine verbindliche Aussage über die Lokalisation einer effektiven Sekretionsleistung gegeben (24). Die Bedeutung der Kernmessung als feinsten Indikator einer Gonadotropinwirkung bleibt jedoch unumstritten.

4. Beziehungen zwischen Vitamin E und Gonaden

Bei einer Reihe von Versuchen über die Wirkungsweise des Vitamins E, auch Antisterilitätsvitamin genannt, konnte eine gewisse Stimulierung der Gonaden verzeichnet werden (siehe auch MAURUS 34).

Wie HÜTER (35) 1947 an Kaninchen zeigen konnte, verdoppelt sich das Gewicht von Ovarien und Hoden nach Verabreichung von Vitamin E (=VE). Gleichzeitig tritt die Geschlechtsreife früher ein. Er konnte damit ähnliche, von STÄHLER und Mitarbeiter (36) bereits 1942 gemachte Beobachtungen bestätigen. HÜTER (35) wies weiter nach, daß männliche Tiere weit empfindlicher auf VE-Gaben reagieren als weibliche gemessen an den Veränderungen der Schilddrüse. Bei gleicher Dosierung zeigen Männchen Abweichungen von

der Norm, die auf eine ausgeprägte Hypervitaminose schließen ließen. Dagegen waren bei weiblichen Tieren nur geringfügige Veränderungen nachzuweisen.

a) Vitamin E bei männlichen Tieren

Ein ausgeprägter VE-Mangel wurde bei männlichen Haustieren nur selten beobachtet (37). Demgegenüber konnten Degenerationen am Hoden, die auf eine VE-Hypovitaminose zurückzuführen waren, bei jungen Schweinen (38), bei Kälbern (39), beim Hund (40) und beim Hahn (41,42,43) nachgewiesen werden (38-43 zitiert nach 37).

Experimentell erzeugte Hypovitaminosen bei männlichen Ratten führten zu irreparablen Fertilitätsstörungen (44). Es kam dabei zu einer Auflösung der Tubuli in den Testes. Eine Regeneration war nur bei frühzeitiger Zufuhr von VE möglich. Bei diesen Versuchen wurde weiter festgestellt, daß die VE-Mangeltiere, ähnlich den Kastraten, Kreatin ausscheiden. Auch im Aussehen gleichen sie den kastrierten Ratten. Überraschend im Hinblick auf das offensichtliche Erlöschen der Genitalfunktion ist die Tatsache, daß das Interstitialgewebe und die LEYDIG'schen Zwischenzellen angeblich unverändert bleiben.

NEUMANN und ROSINSKY (45) beobachteten 1942 bei sterilen Männern eine auffallende Besserung der Spermienproduktion und der Spermienqualität nach Applikation von VE in Kombination mit männlichem Sexualhormon. In der Veterinärmedizin wurde eine Steigerung der Zuchterfolge nach VE-Gaben an Bullen und Hengste beobachtet (46,47,48, zitiert nach 37). Ebenso steigert sich die sexuelle Aktivität nach VE-Gaben an Bullen (46,49,50, zitiert nach 37) und Deckhengste (47,51,48, zitiert nach 37).

b) Vitamin E bei weiblichen Tieren

Bei nicht infektiös bedingten, habituellen Abortivfällen ist u.a. an eine Verarmung des mütterlichen Organismus an VE zu denken. So berichtet EVANS und BISHOP (52) von einer, durch VE-Mangel bedingten Resorptionssterilität bei Ratten. Auch TAGWERKER (53) gibt an, daß bei Haustieren ein Absterben der Früchte im Uterus durch VE-Mangel bedingt ist. Diese werden entweder resorbiert oder abortiert. Bei Frauen konnten regional gehäuft auftretende, habituelle Aborte durch eine Behandlung mit Tocopherol während der Schwangerschaft verhindert werden (44).

STÄHLER und PEHL (54) teilten 1941 mit, daß VE beim Follikelhormon nur eine geringe, dagegen beim Corpus-luteum-Hormon eine erhebliche Steigerung des Normaleffektes bewirkt.

STÄHLER und HOPP (55) konnten 1942 im Uterustest an kastrierten Kaninchen nachweisen, daß das Gelbkörperhormon durch hohe Dosen von α - Tocopherol ersetzt werden kann. Ebenfalls hohe Dosen von VE führen beim Menschen zu einer Einschränkung der Follikelhormon-, Progesteron- und Prolanausschüttung (56).

MASSENBACH und Mitarbeiter (57) zeigten unter Anwendung der Versuchsanordnung von LIPSCHÜTZ (Ovartransplantation in die Milz, dadurch Beeinträchtigung der Peripherwirkungen der Ovarialhormone auf Grund der Steroidinaktivierung in der Leber), daß das VE den follikelstimulierenden und luteinisierenden Faktor des HVL aufeinander abstimmt und somit eine zu starke, einseitige Funktion des Ovars verhindert.

1956 gelang es BRÜGGEMANN und NIESAR (58) durch die Bestimmung des Gehaltes der Ovarien und einer Reihe von anderen Organen an VE bei 100 Kühen darzutun, daß in keinem Falle eine Zyklussterilität auf eine Verarmung des Organismus an diesem Wirkstoff zurückzuführen war. Es wurde gefolgert, daß die in der Praxis erzielten Erfolge durch Applikation von VE bei Zyklussterilität nicht auf eine Mangelernährung zurückzuführen seien. Als Modus für die günstige Wirkung einer VE-Stoßtherapie wurde eine unspezifische Reizwirkung diskutiert. Versuche von MAURUS (34), der die Beeinflussung der Nebennierenrinde durch VE an Ratten untersuchte, verliefen bei den von ihm angewandten Dosierungen und Versuchszeiten negativ. Seiner Auffassung nach dürfte die günstige Wirkung von VE im Sexualbereich einem ubiquitären Effekt, nicht aber einer lediglich corticotropen Stimulierung zuzuschreiben sein.

Durch Verabreichung von VE an juvenile Kaninchen konnte OTTOLENGHI-PRETI (59) regelmäßig hämorrhagische Follikel erzeugen. Außerdem wurde die Atrophie des Uterus nach Kastration verhindert.

BRÜGGEMANN und Mitarbeiter (60) konnten durch intravenöse Verabreichung eines wasserlöslichen VE-Präparates einen höheren VE-Spiegel in den Organen erzeugen als bei i.m. Injektion. Sie erreichten dadurch bei juvenilen Ratten

eine deutliche Vergrößerung des Uterus, gemessen am Trockengewicht und Stickstoffgehalt.

SCHRAMM (61) gelang es nicht, bei Ratten durch eine Applikation von waserlöslichem VE einen eindeutigen Befund hinsichtlich einer gonadotropen Wirkung zu erzielen, soweit dies im Kurzversuch am Ascorbinsäuregehalt der Ovarien festzustellen ist.

Zur weiteren Abklärung der Frage, inwieweit der wohl anerkannte, "uterotrope" bzw. gonadenwirksame VE-Effekt mit einer spezifischen, endokrinen Wirkung gleichzusetzen sei, sollten die im Rahmen vorliegender Arbeit durchgeführten Versuche dienen.

5.) Beziehungen zwischen Vitamin A und Gonaden

Die Beziehungen zwischen Vitamin A (=VA) und den Sexualorganen wurden viel diskutiert, zumal das VA als Epithelschutzvitamin für das Keimepithel als bedeutungsvoll angesehen wird.

Im Jahre 1925 berichten SHERMANN und LEOD (62) von einem Rattenpaar, das VA-frei ernährt, ohne Nachkommen blieb im Gegensatz zu normal gefütterten Kontrolltieren.

Bereits ein Jahr früher stellte GROSS (63) eine deutliche Hodenverkleinerung bei VA-Mangelratten fest. WOLBACH und HOWE (64) bestätigten diesen Befund ebenfalls bei Ratten. Sie berichten von einer Reduktion der Testes bis zur Hälfte der Normalgröße. An Rattenovarien konnte TRUSCOTT (65) auch einen Größenunterschied nach VA-freier Ernährung dahingehend feststellen, daß eine deutliche Verkleinerung gegenüber den Kontrolltieren auftrat.

MASON (66) stellte 1933 fest, daß bei einer Verarmung des Organismus an VA bereits Störungen am Keimepithel auftreten, lange bevor klinische Erscheinungen manifest werden. Den Grund für diese Tatsache sieht er in der feinen Struktur und der großen Zellaktivität speziell dieses Gewebes. Schon ein geringgradiger Mangel an VA ruft Störungen des ovariellen Zyklus hervor. Der Sterilitätsprozentsatz bei entsprechenden Kaninchen lag um etwa 18 % höher als bei normal gefütterten Tieren. Die Würfe der tragend gewordenen Tiere waren reduziert (67). GÖTZE (68) sah bei leicht A-avitaminotischen

Rindern Störungen der Oogenese, der Ovulation und eine Dysfunktion des Gelbkörpers. GAETHGENS (69) bringt die, an kleinen Laboratoriumstieren beobachteten Acyclien in Verbindung mit verschiedenen Zyklusstörungen der Frauen, welche durch VA-Applikation ausgeheilt werden konnten.

Entwicklungsfehler und gesundheitliche Störungen bei Saugferkeln wurden von HALE (70) auf eine VA-arme Ernährung der Muttersauen zurückgeführt. Bei Rindern traten Schwierigkeiten bei der Geburt und gehäufte Störungen im Puerperium auf, die LENKEIT (71) als Folgeerscheinung eines geringgradigen Mangels an VA bezeichnet. Stärkere Mangelernährung führt bereits zu einem intrauterinen Absterben der Früchte und zu Aborten. Eine Verfütterung von gehaltsarmen Futtermitteln an hochträchtige oder frischmelkende Kühe führt u.a. zu einer Unterbilanz des Muttertieres an VA, was eine Mangelernährung der Kälber bedeutet (72).

In einer Veröffentlichung von BRÜGGEMANN und NIESAR (73), der bereits ein Kurzbericht von NIESAR (74) vorausging, wurde über eine Stimulierung des Hodengewebes nach VA-Gaben berichtet. Dabei wurde der Gehalt der Hoden an Desoxyribonucleinsäure und Ribonucleinsäure gemessen. Bei Mangeltieren wurde eine Erniedrigung, nach Zufuhr an Normaltiere eine Erhöhung der Nucleinsäuregehalte festgestellt.

Untersuchungen an verschiedenen Organen von Rindern über deren Gehalt an VA zeigten in keinem Falle einer Zyklussterilität eine Verarmung des Gesamtorganismus an diesem Wirkstoff (58, 75).

Da allgemein für die beiden fettlöslichen Vitamine A und E synergistische Beziehungen angenommen werden dürfen, ist auch die Frage einer Wirkungsweise im Genitalsystem - nämlich ob spezifisch im endokrinen Bereich oder ob unspezifisch - wohl in ähnlicher Weise zu behandeln.

In Arbeiten von STÖCKL (76) und MAURUS (34) an diesem Institut mit karyometrischer Technik konnten z.B. keine NNR-Stimulierungen bei Ratten festgestellt werden.

Um eine "spezifische" gonadotrope Wirkung des VA auszuschließen, wurde in vorliegender Arbeit auch das Kriterium der Kernmessung an Interstitialzellen in einer parallel zu den VE-Versuchen durchgeführten Versuchsserie angewandt.

6.) Zur Frage des Einflusses von Aureomycin auf die Gonaden

Die Anwendung der Antibiotica bei Haustieren geschieht im Rahmen tierärztlicher Medikation und der Fütterung. Die Antibiotica-Zusätze zu Futtermitteln, denen eine Wachstumsbeschleunigung und eine intensivere Futterauswertung zuerkannt werden muß, sind im Gegensatz zur erstgenannten Indikation sehr niedrig dosiert. Die nutritive Anwendung von Chlortetracyclin geht im Wesentlichen auf Arbeiten von STOKSTAD und Mitarbeiter (77) zurück.

Einen aktuellen Überblick über die derzeitige Problematik der Antibiotica-Anwendung in der Tierernährung gibt das Referat von BRÜGGEMANN (78) von 1959.

Im Zusammenhang mit vorliegendem Thema seien lediglich zwei Fragen herausgegriffen, die noch weiterer Bearbeitung harren.

1. Ist mit einem beschleunigten Wachstum der mit Aureomycin gefütterten Tiere auch eine Stimulierung der Gonaden im Sinne einer Acceleration gegeben?
2. Hat das Aureomycin überhaupt und im speziellen bei Dosierungen, wie sie zum Erzielen des Wachstumseffektes gegeben werden, einen Einfluß auf das empfindliche Keimgewebe?

Zu diesen Problemen haben BRÜGGEMANN und ZUCKER (79) bereits 1956 an Hand der damaligen Literatur Stellung genommen. Sie berichteten über Generationsversuche und andere Untersuchungen des Einflusses von Chlortetracyclin auf die Fertilität. Es konnten keine nachhaltigen Folgen der Antibiotica-Fütterung in diesem Zusammenhang festgestellt werden. Die beobachtete früher eintretende Geschlechtsreife wird auf die Verfütterung von tierischen Proteinen zurückgeführt.

Auch BAIER (80) hat die zweite Frage dahingehend beantwortet, daß, ausgehend von verschiedenen Applikationsarten, keine negative Beeinflussung von Keimzellen beobachtet wurde. Weder bei intrauterinen noch bei parenteralen, massiven Aureomycingaben, wie sie zur Bekämpfung von Infektionskrankheiten nötig sind, noch als Zusatz zur Samenflüssigkeit sind nachteilige Folgen bekannt. Auch bei Schweinen, die mit einer heute üblichen Antibiotica-Beifütterung aufgezogen wurden, konnte noch keine Störung im Fortpflanzungsgeschehen beobachtet werden.

Einen Beitrag zur weiteren Klärung der ersten Frage sollten eigene, im experimentellen Teil dieser Arbeit angeführte Versuche mit nutritiver Anwendung von Chlortetracyclin bringen.

7.) Zur Wirkung von Cortison auf die Gonaden

Cortison ist ein therapeutisch viel verwendetes Steroidhormon der Nebennierenrinde. Die endokrinen Beziehungen zwischen NNR und Genitalbereich wurden unlängst von KARG (24) ausführlich dargelegt.

Spezielle Versuche über die Einwirkung von Cortison auf die Gonadenfunktion hatten z.T. recht widersprechende Ergebnisse.

Im Jahre 1950 entdeckte BYRNES und SHIPLEY (81), daß das Cortison in Beziehung zur Genitalsphäre gebracht, eine progesteron-unterstützende Wirkung hat. COURRIER (82) konnte diese Ansicht bestätigen. Darüber hinaus ist bei hoher Dosierung eher ein negativer Einfluß auf die Gonaden zu erwarten. Eine stimulierende Wirkung von Cortison auf Hoden ist nur bei hypophysenlosen Tieren beobachtet worden (83). Hingegen machte sich bei normalen Tieren ein schädigender Einfluß bemerkbar. Es wurde angenommen, daß Cortison die gonadotrope Wirkung des Hypophysenvorderlappens hemmt (84). Durch Applikation von Cortison an Tiere, denen vorher die Nebennieren extirpiert wurden, traten im Interstitium regressive Veränderungen auf, während die Spermiogenese aufrecht erhalten werden konnte (85). MADDOCK, CHASE und NELSON (86) konnten durch Cortisongaben eine erhöhte Gonadotropin-Ausschüttung erzeugen. Es wurde dabei eine selektive Förderung der FSH-Produktion diskutiert. Mit dieser Vermutung stünden auch die Befunde von WILKINS und Mitarbeiter (87) im Einklang.

Hohe Dosen von Cortison setzen die spezifische Wirkung von Östrogenen und von Gonadotropin herab (88,89,90). Zu diesen Befunden steht im Gegensatz ein Bericht von ATERMAN und GREENBERG (91), nach deren Ausführungen durch Cortison-Gaben an Ratten ein vorzeitiges Eintreten der Geschlechtsreife beobachtet wurde.

Zur Frage einer "gonadotropen" Auswirkung von Cortison sollten eigene Versuche Aufschluß geben.

Aus der vorstehenden Literaturbesprechung resultiert, daß nicht nur durch spezifische Hormone des endokrinen Sexualkreises Einflüsse auf die Genitalsphäre zu erwarten sind, sondern daß auch Beziehungen anderer Wirkstoffe zu den Gonaden diskutiert werden.

Als Beitrag zur Klärung dieser Fragen sollten eigene Versuche durchgeführt werden, wobei mit Hilfe der von TONUTTI und seiner Schule inaugurierten karyometrischen Auswertung der interstitiellen Zellen der Gonaden präzise, quantitative Aussagen anzustreben waren.

III. METHODIK

1.) Versuchstiere, Haltung und Fütterung

Zu den Versuchen wurden, mit Ausnahme des Versuches Nr.4, Albinoratten eines SPRAGUE DAWLEY Zuchtstammes verwendet, der im Institut gezüchtet wird. Bei der Auswahl der Versuchstiere wurden besonders zwei Faktoren berücksichtigt. Die Verteilung auf Versuchs- und Kontrollgruppe erfolgte 1. an Hand des Gewichtsvergleiches, 2. unter besonderer Berücksichtigung von Wurfgeschwistern.

Das Alter der ausgesuchten Tiere richtete sich nach Art und Dauer des Versuches. Jedes Einzeltier wurde mit Ohrmarken gekennzeichnet.

Die Tierzahl der Gruppen (aus den Ergebnistabellen ersichtlich) ist bei den einzelnen Versuchen sehr unterschiedlich groß. Die Anzahl der pro Gruppe verwendeten Tiere wurde so angestrebt, daß eine statistische Sicherung der Ergebnisse ermöglicht wurde.

Versuch- und Kontrolltiere wurden unter denselben Bedingungen gehalten. Die Ratten wurden, getrennt nach Gruppen, in Batteriekäfigen mit Zinkblech-Schubfächern auf Gitterböden untergebracht. Futter und Wasser erhielten die Tiere ad libitum.

Das Grundfutter hatte für alle Versuche die gleiche Zusammensetzung: 48 Teile Weizen, 33 Teile Mais, 7 Teile Sojaschrot, 5 Teile Magermilchpulver, 5 Teile Luzernegrünmehl und 2 Teile Mineralstoffmischung bestehend aus: 40,0 % kohlen saurem Kalk, 30,0 % phosphorsaurem Kalk, 24,5 % Viehsalz, 5,0 % Magnesiumsulfat und 0,5 % Spurenelementsalze (Fe: Cu: Mn. Co = 5:1, 5:1:0,2). Als Trinkwasser diente Leitungswasser.

Neben der Auswertung des Organmaterials aus Rattenexperimenten gelangten in einer Versuchsserie auch Hoden aus einem Versuch an 32 Jungbullen, der am hiesigen Institut durchgeführt wurde, im Rahmen dieser Untersuchungen zur Bearbeitung. Über die versuchstechnischen Einzelheiten wurde bereits von BRÜGGEMANN und Mitarbeiter (92) berichtet. Es handelt sich um Jungbullen der Höhenfleckviehrasse im Alter von 6-10 Monaten, die zu je 8 Tieren in

vergleichbare Gruppen eingeteilt wurden. Sie waren im Versuchsstall des Instituts aufgestellt. Das Futter bestand aus Getreideschrot, Trockenschnitzel und Heu. Letzteres sowie Trinkwasser erhielten sie ad libitum.

2.) Angewandte Präparate

Es gelangten folgende Präparate bei den Versuchen zur Anwendung:

- a) Choriongonadotropin, in Form von Primogonyl (SCHERING).
- b) Testosteron, in Form von Testosteronönanthate (SCHERING).
- c) Östradiol, in Form von Östradiolundecylat (SCHERING).
- d) α -Tocopherol kam in zwei verschiedenen Formen zur Anwendung:
 - 1. i.m. appliziert als Enoulan-forte (KNOLL),
 - 2. i.p. als 3 %ige, wässrige Lösung (KNOLL).
- e) Vitamin A, in Form von Vogan (MERCK).
- f) Hydrocortison, in Form von Scheroson (SCHERING).
- g) Chlortetracyclin crist. als Aureomycin (CYANAMID).

Die aufgeführten Präparate wurden nach Angaben im experimentellen Teil dosiert und oral bzw. parenteral appliziert.

3.) Tötung, Präparation und histologische Technik

Als geeignete Art der Tötung der Versuchsratten erwies sich die Decapitation, da die Tiere auf diese Weise gut ausbluten. Eine starke Blutfüllung der Organe könnte einen erschwerenden Faktor bei der karyometrischen Auswertung darstellen.

Das anschließende Herauspräparieren der Hoden bzw. Ovarien und das Befreien von umgebenden Gewebsresten geschah sehr sorgfältig. Es wurde besonders darauf geachtet, daß jeder Zug und jeder Druck auf die Organe nach Möglichkeit verhindert wurde. Hoden sind diesbezüglich weniger empfindlich, da sie mit einer derben Bindegewebskapsel umgeben sind. Parenchym und Interstitium sind locker miteinander verbunden und leicht beweglich, sodaß Kerndeformationen nicht so leicht eintreten. Die Konsistenz der Ovarien ist derber und deshalb wirken sich Insulte ungünstig auf die Kernformen aus.

Fixiert wurden jeweils beide Keimdrüsen. Zur histologischen Untersuchung kamen aber nur die linken Organe, die rechten blieben als Reserve zurück. Bei Ver-

suchen, die in anderem Zusammenhang durchgeführt wurden, kamen beide Hoden nach der karyometrischen Technik zur Auswertung. Dabei konnte ein Vergleich der LEYDIG-Zellkerngröße zwischen linkem und rechtem Hoden an- gestellt werden. Es zeigte sich eine gute Übereinstimmung, sodaß die Maß- nahme, nur einen Hoden zur Auswertung heranzuziehen, berechtigt erschien, (siehe auch 5). Daneben wurden bei weiblichen Ratten noch die Uteri, bei männlichen die Samenblasen herausgenommen und nach Präparation auf 1 mg genau gewogen.

Die Hoden der Jungbullen aus Versuch 4 wurden an Ort und Stelle der Schlach- tung entnommen, präpariert und nach Entfernung der Nebenhoden auf 5 g genau gewogen. Bei den linken Hoden wurde mit einem scharfen Skalpell aus der Mitte eine 1 cm dicke Scheibe herausgeschnitten und in Fixierungs- flüssigkeit gehärtet. Nach ein bis zwei Tagen wurde je ein 1 cm³ großes Stück entnommen und fixiert.

Die Aufarbeitung der Präparate geschah in Anlehnung an MUSCHKE (31). Als Fixierungsmittel diente die BOUIN'sche Mischung, die sich nach FEDERLIN (93) als am zweckmäßigsten erwiesen hat. Die Gewebsveränderungen sind, gegenüber anderen Fixierungsmethoden, hiermit am sichersten zu reproduzieren.

Zur Einbettung in Paraffin wurde nach ROMEIS (94) in einer aufsteigenden Al- koholreihe das Fixierungsmittel ausgewaschen. Bis zur völligen Entwässerung kamen die Präparate über Isopropylalkohol in Methylbenzoat und zum Übergang in das Paraffin folgte Benzol und ein Gemisch aus Benzol und Paraffin.

Das Ausgießen, Aufblocken, Härten und Schneiden erfolgte wie üblich. Die Schnittdicke war bei allen Versuchen 7,5 μ . Zur Kernmessung konnten Schnitte aus allen Schichten sowohl der Ovarien als auch der Hoden verwendet werden, da die Interstitialzellkerne überall gleichmäßig verteilt sind. Bei den Hoden hat es sich als vorteilhaft erwiesen, die Schnitte in einem Winkel von 20-30 Grad zur Querachse zu legen. Nach eigenen Erfahrungen hat man bei einem Schräg- schnitt eine größere Flächenausdehnung des Interstitiums pro Schnitt zum Mes- sen zur Verfügung.

Das Aufziehen der Schnitte auf die Objektträger erfolgte nur mit Wasser ohne Verwendung von Eiweiß-Glyzerin. Eine Wassertemperatur von +47-48 °C war nötig um die Schnitte auszubreiten und um ein gleichmäßiges Ankleben auf dem Objektträger zu erreichen. Die Objektträger wurden vorher mit 96%igem

Alkohol völlig entfettet. Zum Trocknen wurden die Schnitte über Nacht in einen Brutschrank bei $+36^{\circ}\text{C}$ gestellt. Vor dem Färben wurden sie ebenfalls im Brutschrank 3 Min. bei $+58^{\circ}\text{C}$ angeschmolzen.

Gefärbt wurden die Schnitte nach der Färbemethode von BOGUTH, LANGEN-DORFF und TONUTTI (95); allerdings mit abgewandelten Färbezeiten. Nach dem Entparaffinieren wurden die Schnitte über aqua dest. in Hämatoxylin nach EHRlich gebracht. Nach einer Färbezeit von 5 Min. wurden sie in aqua dest. abgespült, in einer 1%igen, wässrigen Kalialaunlösung 1/2-1 Min. differenziert und in fließendem Leitungswasser 15 Min. gebläut. Darauf erfolgte eine kurze Spülung in aqua dest. und Einstellen in eine wässrige, 1%ige Orange-G-Lösung, die mit Eisessig angesäuert war (2 Tropfen auf eine runde Küvette). Die überschüssige Farbe wurde kurz mit aqua dest. abgewaschen und sofort 2 Min. in Anilinblau-Phosphormolybdänsäure nachgefärbt. Nach kurzem, zweimaligem Spülen in 96%igem Alkohol wurden die Schnitte jeweils für ca. 5 Min. in 96%igem Alkohol, Isopropylalkohol (100 %) und 3-4 mal in Xylol bis zur völligen Entwässerung eingestellt.

Eingedeckt wurden die Schnitte mit gut flüssigem Cădax. Die Deckgläser wurden vorher in 96%igem Alkohol entfettet. Um ein Reißen der Schnitte zu vermeiden, sollen die Objektträger gut mit Xylol befeuchtet bleiben. Außerdem verteilt sich das Cădax unter dem Deckglas dabei besser und ein Andrücken oder Beschwerden kann entfallen.

4.) Karyometrische Auswertung

Gemessen wurden die Schnitte nachdem sie ein bis zwei Tage gelegen hatten. Da die Farbe aber schnell an Intensität verliert und die Konturen der Kerne unscharf werden, mußten die Schnitte, wenn sie gefärbt waren, innerhalb 14 Tagen bearbeitet sein.

Die Kernmessung wurde in Anlehnung an die Arbeit von FETZER und Mitarbeiter (5) vorgenommen. Mittels Umrißzeichnung wurden die Kernfiguren der LEYDIG-Zellen und der Interstitialzellen der Ovarien dargestellt.

Gearbeitet wurde mit einem Laborlux-Mikroskop (LEITZ), dessen Binokulotubus durch einen Fototubus mit monokularem Schrägblick (LEITZ) ersetzt wurde.

Auf den senkrechten Tubus wurde ein Zeichenaufsatz mit einem 24° Prisma (LEITZ) montiert. Um die Kernumrisse möglichst scharf darzustellen wurde bei Ölimmersionsvergrößerung mikroskopiert. Die Zeichenebene wurde so eingerichtet, daß der vom Prisma abgeleitete Strahl senkrecht auf die Zeichenfläche traf. Der Abstand Prisma : Zeichenfläche wurde so gewählt, daß die gezeichneten Umriss einer 2500fachen Vergrößerung der normalen Kerngröße entsprachen. Geeicht wurde mit einem Objektmikrometer (LEITZ), dessen Teilstrichabstand 1/100 mm beträgt. 1/100 mm entsprach auf der Zeichenebene einem Abstand von 25 mm.

Gezeichnet wurde mit einem Bleistift. Der Zeichenvorgang wurde auf Grund eigener Erfahrungen durch Verwenden von dunkelblauem Papier wesentlich erleichtert. Das Auge ermüdet nicht so rasch, offensichtlich da die Reflexion des Lichtes, die am weißen Papier zustande kommt, wegfällt. Außerdem hat man eine gewisse Selbstkontrolle. Bleistiftstriche sind durch das Prisma auf blauem Papier fast unsichtbar. Hat man exakt gezeichnet, müssen sich die Kernumrisse zu einem Ring schließen.

Im allgemeinen kamen 200 Zellen pro Präparat zur Messung. Ausnahmefälle sind besonders erwähnt. Eigene Ergebnisse zeigten, im Gegensatz zu MUSCHKE (31), daß auch bei Kernen mit ellipsoider Gestalt 200 Messungen genügen. Bei 100 ermittelten Volumina war der Kulminationspunkt auf der Häufigkeitsverteilungskurve noch nicht stabilisiert. Er verschob sich bei weiteren Messungen. Mit 200 Kernen war er jedoch so fixiert, daß sich weiterhin nichts mehr veränderte.

Da maximal 10-15 LEYDIG'sche Zellen in den Interstitialräumen zwischen den Tubuli beisammen zu finden sind - meist nur 3-4 - ergab sich ganz von selbst, daß die Gesichtsfelder und auch die Schnitte für eine Auswertung gewechselt werden mußten.

Zur Darstellung gelangten jeweils nur Kerne, deren Innenstruktur für LEYDIG-Kerne charakteristisch war; scharfer, nach außen und innen abgesetzter Rand, deutlicher Nucleolus, schollige Einlagerungen im Kernplasma. Durch diese Kriterien konnten Verwechslungen mit Blutzellen, Bindegewebskernen und, bei undeutlicher Tubuluswand, SERTOLI-Zellen ausgeschlossen werden.

Aus den Umrißzeichnungen der Kerne wurden Längs- und Querdurchmesser mittels eines durchsichtigen Lineals auf 0,5 mm genau ermittelt. Aus diesen

Durchmessern wurden die Halbmesser gebildet ($a = 1/2$ Längsdurchmesser, $b = 1/2$ Querdurchmesser) und nach der Formel

$$V = 4/3 \pi \cdot ab^2$$

der Rauminhalt berechnet. Zur schnelleren und sicheren Ermittlung der Einzelvolumina diene ein Nomogramm. Die Formel für das Nomogramm für Rotationsellipsoide, nach der es angefertigt wurde, lautet ^{r)}:

$$\text{I.} \quad (a+b) \cdot z = bx_2 + ay$$

$$\text{II.} \quad 3/4 \pi \cdot V = ab^2$$

wobei: $a = 2$

$b = 1$

$a+b = 3$

Daraus werden die Größen für x , y und z errechnet:

$$x = \log a$$

$$y = \log b$$

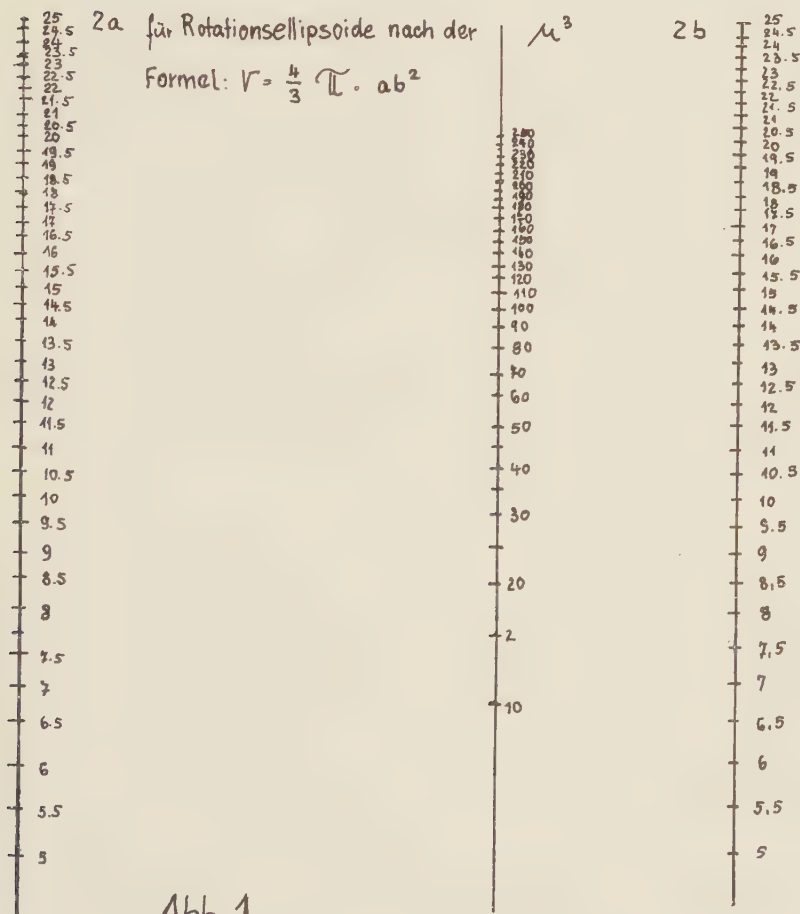
$$3z = \log V, \quad z = 1/3 \log V$$

Die Werte für das von mir verwendete Nomogramm wurden so festgelegt, daß die in mm auf der Projektionsvergrößerung abgelesenen Durchmesser $2a$ und $2b$ für die Berechnung des Kernvolumens in μ^3 direkt berücksichtigt werden konnten (die Nomogrammwerte der Volumina wurden aus diesem Grunde durch 8 dividiert).

^{+) Für die freundliche Unterstützung bei der Anfertigung des Nomogramms sei an dieser Stelle Herrn Dipl. Ing. K. Bartschmid und Herrn cand. Ing. H. Königsberger besonders gedankt.}

In Abb. 1 ist das so erhaltene Nomogramm (verkleinert) ersichtlich.

Nomogramm



Die auf diese Weise ermittelten Einzelwerte der Kernvolumina wurden für jedes Tier in Klassen mit einer Breite von $10 \mu^3$ zusammengefaßt. Es entstanden so genaue Verteilungskurven, die über die Häufigkeit der vorkommenden Kerngrößen Aufschluß gaben. Aus den Ergebnissen wurde sodann das Ge-

samtvolumen der einzelnen Kerngrößenklassen für jede Gruppe errechnet. Zur graphischen Darstellung gelangte die Häufigkeitsverteilung bei einer Gruppe, angegeben in Prozent. Die Kurven wurden nach der Formel

$$b' = \frac{a + 2b + c}{4}$$

geglättet. Außerdem wurde aus den 200 pro Präparat ermittelten Volumenwerten die Summe gebildet und für jedes Tier das mittlere Kernvolumen errechnet. Aus diesen Mittelwerten konnten wiederum repräsentative Gruppendurchschnittswerte gewonnen werden. Mit der Formel

$$s' = \sqrt{\frac{S(x_i - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$$

wurde die Streuung der letztgenannten Durchschnittswerte erhalten.

Mit Hilfe des t-Testes (siehe MUDRA 96) wurden die Gruppenunterschiede auf Zufallswahrscheinlichkeit geprüft, im gleichen Sinne wurde teilweise auch der WILCOXON-Test (97) für die statistische Auswertung herangezogen.

IV. VERSUCHE UND ERGEBNISSE

Mittels der im vorausgegangenen Abschnitt beschriebenen Methode wurden die Gonaden aus sieben Rattenversuchen mit insgesamt 87 Tieren, sowie einem Bullenversuch mit 32 Jungbullen ausgewertet. Die ersten Versuchsserien betrafen Rattenversuche, bei denen die spezifischen Hormone des Sexualkreises zur Anwendung gelangten. Gleichzeitig wurde damit auch die Brauchbarkeit des angewandten Verfahrens erprobt. Ein Versuch an männlichen Ratten (Versuch 3) diente insbesondere der methodischen Vorbereitung für die Auswertung des Hodenmaterials aus einem Bullenmastversuch (Versuch 4) mit Sexogenanwendung. Die Rattenversuche 5 bis 7 sollten uns zeigen, inwieweit die nicht genitalspezifischen Vitamine A und E, deren Bedeutung für die Sexualfunktionen erörtert werden (siehe Einleitung) sich auf die spezifischen Kriterien der Gonaden auswirken. In ähnlicher Fragestellung wurden im Rahmen dieser Arbeit die aus Wachstumsversuchen unter Einsatz von Chlortetracyclin und Cortison erhaltenen Gonaden von Ratten auf Veränderungen untersucht. (Versuch 8).

A.) Versuche mit Sexualhormonen

1. Versuch: Wirkung von Choriongonadotropin auf weibliche Ratten.

Der erste Versuch wurde in Anlehnung an die Untersuchungen von MUSCHKE (31) durchgeführt. Er diente, da die Größenunterschiede der Interstitialkerne zwischen Versuchs- und Kontrolltieren sehr deutlich zu erwarten waren, in der Hauptsache zur eigenen Einführung und zur Überprüfung der Methodik.

Drei juvenile weibliche Ratten im Gewicht von ca. 50 g erhielten 3 Tage lang 10 Einheiten Choriongonadotropin pro Tier subcutan verabreicht. Den Versuchstieren gegenüber standen 3 Kontrolltiere.

Die erhaltenen Ergebnisse: Körpergewicht, Uterusgewicht und durchschnittliches Kernvolumen sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

TABELLE I

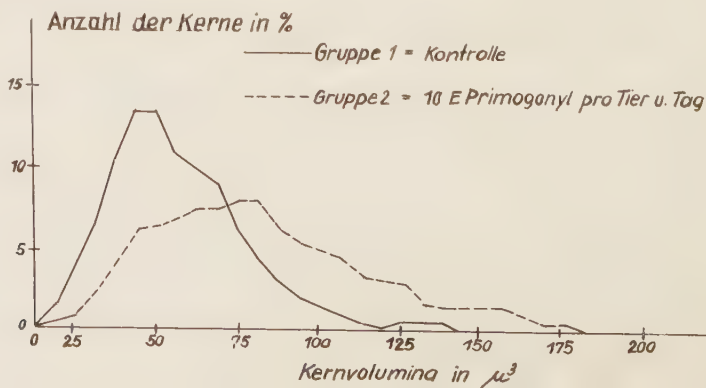
Choriongonadotropin-Versuch bei weiblichen Ratten.
Versuchsdauer 3 Tage

Tiernr.	Körpergew. bei Tötung (g)	Uterusgew. (mg)	IC-Vol. (Mittelwert) (μ^3)
Gruppe 1: Kontrolle			
108	49	45	54
111	51	50	66
109	52	50	49
Gruppe 2: 10 Einheiten Choriongonadotropin pro Tier und Tag			
112	49	100	74
107	50	75	80
110	53	80	90

Aus der Tabelle 1 ist klar zu erkennen, daß sich sowohl die Uteri, als auch die Interstitialkerne unter dem Einfluß von Choriongonadotropin erheblich vergrößert haben. Die Zunahme der Interstitialzellkerne bei den Versuchstieren beträgt gegenüber den Kontrollen im Mittel 44 %.

In Abbildung 2 ist die Häufigkeitsverteilung der Kerngrößen wiedergegeben. Es kommt hier besonders die Progression der Interstitialzellkerne bei der Versuchsgruppe in einer deutlichen Rechtsverschiebung zum Ausdruck.

Abbildung 2:



Das Ergebnis zeigt den erwarteten Effekt des spezifisch gonadotropen Hormones. Die stark ausgeprägten Unterschiede zwischen Kontroll- und Versuchsgruppe rechtfertigen die geringe Tierzahl. (Es ist beim Vergleich nach WILCOXON bereits statistische Sicherung $P < 0,05$ gegeben.)

2. Versuch Wirkung von Testosteronönanthat auf weibliche Ratten.

Im zweiten Versuch wurde die Wirkung einer weiteren, direkt im Genitalkreis angreifenden Substanz auf weibliche Gonaden getestet. Es wurden dafür Ratten kurz vor Beginn der Pubertät (ca. 70 g schwer) verwendet.

Drei Tiere bekamen 6 bzw. 14 Tage vor der Tötung 0,5 mg Testosteronönanthat subcutan. Zwei weiteren Tieren wurde 6 bzw. 14 Tage vor der Tötung je 15 mg Testosteronönanthat injiziert. Zum Vergleich blieben 2 weitere Tiere unbehandelt.

Die erhaltenen Werte für Körpergewicht, Uterusgewicht, und Durchschnittsvolumen der Interstitialzellkerne sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

TABELLE II

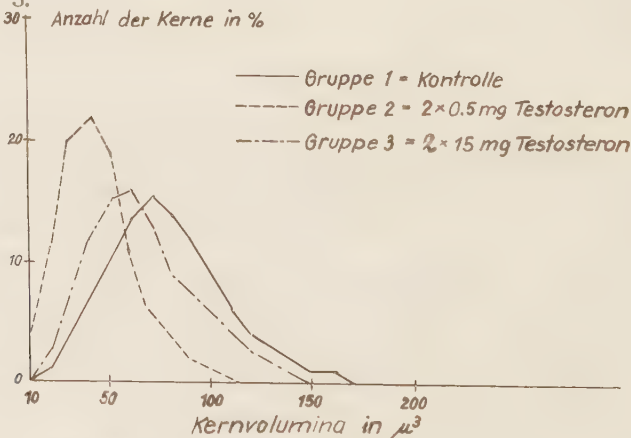
Testosteron-Versuch bei weiblichen Ratten.
Versuchsdauer 14 Tage

	Tiernr.	Körpergew. bei Tötung (g)	Uterusgew. (mg)	IC-Vol. (100 Zellen (μ^3) je Präparat)
Gruppe 1:	Kontrolle			
	194	85	45	83
	134	90	70	76
Gruppe 2:	2 • 0,5 mg Testosteronönanthat			
	129	89	145	47
	159	99	215	42
	192	108	195	41
Gruppe 3:	2 • 15 mg Testosteronönanthat			
	127	69	190	55
	190	86	180	75

Die Uterusgewichte der Tiere beider Versuchsgruppen unterscheiden sich von denen der Kontrolltiere durch ihr durchwegs höheres Gewicht. Dieser Unterschied ist stark ausgeprägt. Diese Beobachtung stimmt mit den Ergebnissen der Zellkernmessung nicht überein. Die Interstitialzellkerne der Versuchstiere weisen deutlich eine Regression auf, verglichen mit denen der Kontrolltiere. Auffallend ist dabei ein Unterschied zwischen den Versuchsgruppen 2 und 3. Beachtenswert ist die geringere Regression bei einer erhöhten Dosierung. Dieses, in der Wirkung erwartete, jedoch in der quantitativen Abstufung paradoxe Ergebnis wurde bereits in dem von KARG (24) mitgeteilten Versuchsgut ausführlich erörtert. Die eindeutigen Gruppenunterschiede erlaubten uns auch hier wiederum geringere Tierzahlen, wobei ebenso wie in dem nachfolgenden Versuch 3 ähnlicher Versuchsanstellung der Vergleich von Wurfgeschwistern besonders aufschlußreich war.

Die Abbildung 3 veranschaulicht den Unterschied der Kerngrößen von Versuchs- und Kontrollgruppen. Auch die Verschiebung der Verteilungskurven beider Versuchsgruppen ist zu sehen.

Abbildung 3:



3. Versuch: Wirkung von Testosteronönanthrat auf männliche Ratten.

Hier handelt es sich um einen Parallelversuch zu Versuch Nr.2, diesmal mit männlichen Ratten.

Insgesamt 10 Tiere im Gewicht von 70-137 g wurden nach üblicher Weise in 3 Gruppen eingeteilt. 3 Tiere erhielten $2 \times 0,5 \text{ mg Testosteronönanthrat}$, 4 Tiere $2 \times 15 \text{ mg}$ der gleichen Substanz, 6 bzw. 14 Tage, vor der Tötung.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengefaßt.

TABELLE III

Testosteron-Versuch bei männlichen Ratten.
Versuchsdauer 14 Tage

Tiernr.		Körpergew. bei Tötung (g)	Samenblasen- gew. (mg)	IC-Vol. (Mittelwert) (μ^3)
Gruppe 1:	Kontrolle			
	189	104	53	97
	157	124	35	112
	195	124	65	107
Gruppe 2:	2 • 0,5 mg Testosteronönanthrat			
	131	73	335	35
	193	102	490	32
	162	110	305	37
Gruppe 3:	2 • 15 mg Testosteronönanthrat			
	132	71	580	73
	191	82	625	39
	196	111	615	48
	188	137	650	85

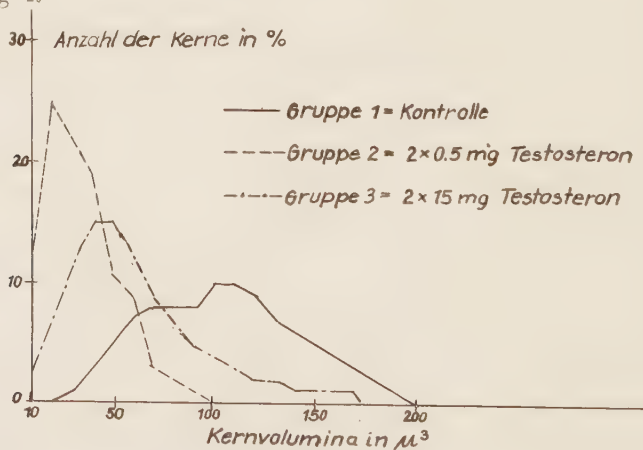
Wie aus Tabelle III zu ersenen ist, gleichen die Ergebnisse jenen aus Versuch Nr. 2. Die Samenblasen sind - vergleichbar mit den Uteri als primäres Erfolgsorgan der Gonadenhormon-Wirkung - bei den Versuchstieren stark vergrößert. Außerdem zeigt sich hier ein Unterschied zwischen den Gruppen mit verschiedener Dosierung. Die Tiere mit der höheren Dosis haben Samenblasen, die rund 12 mal größer sind als die der Kontrolltiere. Die Samenblasen der Tiere mit geringerer Dosierung liegen im Gewicht zwischen denen der Kontrolltiere und Gruppe 3 mit höherer Dosis. Sie sind rund 7 mal größer als die selben Organe der Kontrollen.

Die LEYDIG'schen Zwischenzellen sind, gleich den Interstitialzellen der Ovarien, bei den benadelten Ratten verkleinert; wobei wiederum die höhere Dosierung eine geringere Regression der Kernvolumina erzeugte als die niedrigere Dosierung. Die Gruppendifferenzen kamen durch die unterschiedlichen Absolutwerte der mittleren Kernvolumina noch deutlicher zum Ausdruck. Bei Anwendung des WILCOXON-Vergleiches ergaben sich auch hier zwischen allen drei Gruppen gesicherte Werte.

Diese überraschenden Befunde erfuhren also bei der Androgen-Anwendung auf weibliche und männliche Tiere ihre Bestätigung.

Die in Abbildung 4 dargestellte Häufigkeitsverteilung der einzelnen Größenklassen von LEYDIG-Kernen zeigt diese klare Differenz zwischen den Kontrolltieren und den beiden Versuchsgruppen. Eindeutig ist dabei eine Rechtsverschiebung der Gruppe 3 gegenüber der Gruppe 2.

Abbildung 4:



4. Versuch: Wirkung von Testosteronönanthrat und Östradiolundezylat auf Jungbullen.

Das zur Auswertung gelangte Material stammte aus einem Bullenwachstumsversuch, der am hiesigen Institut durchgeführt wurde. Die versuchstechnischen Einzelheiten haben bereits BRÜGGEMANN und Mitarbeiter (92) ausführlich dargestellt. Es seien deshalb hier nur die, für die Beeinflussung der LEYDIG'schen Zwischenzellen wichtigen Daten erwähnt. Die insgesamt 32 Jungbullen der

Höhenfleckviehrasse im Alter von 6 bis 10 Monaten wurden in 4 vergleichbare Gruppen zu je 8 Tieren eingeteilt. Die erste Gruppe blieb ohne Hormonbehandlung zur Kontrolle. Die zweite Gruppe erhielt einmal 100 mg Östradiolundezylat pro Tier. Die dritte Gruppe erhielt einmalig 1000 mg Östradiolundezylat pro Tier. Die vierte Gruppe erhielt viermal während der Versuchsdauer 1000 mg Testosteronönanthrat pro Tier.

Die Östradiole wurden einmalig intramuskulär zu Beginn des Versuches, Testosteron in Abständen von etwa 4 Wochen intramuskulär injiziert. Der gesamte Versuch erstreckte sich über einen Zeitraum von 163 Tagen. Das Gewicht der Tiere lag um 250-500 kg.

Die Ergebnisse dieses Versuches, über die bereits in einer vorläufigen Arbeit (98) auszugsweise berichtet wurde, sind in Tabelle IV zusammengestellt. Die Tiere sind nach steigendem Körpergewicht geordnet. Es wurden wiederum pro Präparat 200 Kerne gemessen.

Aus den angeführten Werten ist zu sehen, daß, bis auf einzelne Streuer, die aber bei der gruppenweisen Betrachtung nicht ins Gewicht fallen, die LEYDIG'schen Zwischenzellen aller Versuchsgruppen eine erhebliche Regression gegenüber den Kontrolltieren aufweisen. Am stärksten ausgeprägt ist diese Reaktion bei den Testosteron-behandelten Tieren, wobei natürlich die unterschiedliche Dosierung keine vergleichende Aussage zum Östrogen-Effekt zulassen. Die geringsten durchschnittlichen Abweichungen von der Kontrolle wies die Gruppe 2 (100 mg Östradiolundezylat) auf. Jedoch kann auch dieser Gruppenunterschied als gut gesichert ($P = 0,17 \%$) angesehen werden.

TABELLE IV

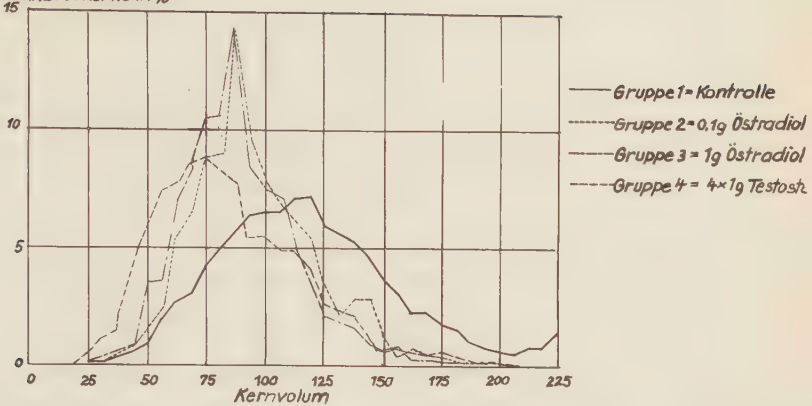
Östradiol- und Testosteron-Versuch bei Jungbullen.
Versuchsdauer 163 Tage

Tiernr.	Körpergew.b.	Hodengew.	IC-Vol. (Mittelwert)
	Schlachtg. (kg)	(g)	(μ^3)
Gruppe 1: Kontrolle			
1	351	570	105
2	352	375	123
3	387	430	126
4	403	525	97

TABELLE IV - Fortsetzung

	Tiernr.	Körpergew.b. Schlachtg. (kg)	Hodengew. (g)	IC-Vol. (Mittelwert) (μ^3)
	5	412	375	130
	6	421	640	121
	7	423	410	115
	8	487	442	129
	Gruppenmittelwert und Streuung:			118,3 $\pm$ 4,2
Gruppe 2:	100 mg Östradiolundezylat			
	9	336	200	91
	10	379	295	105
	11	382	210	84
	12	416	390	84
	13	423	428	88
	14	446	285	93
	15	447	505	119
	16	508	470	98
	Gruppenmittelwert und Streuung:			95,3 $\pm$ 4,2
Gruppe 3:	1000 mg Östradiolundezylat			
	17	350	255	87
	18	354	135	85
	19	379	180	84
	20	390	385	88
	21	403	285	94
	22	413	460	103
	23	441	480	86
	24	460	410	86
	Gruppenmittelwert und Streuung:			89,1 $\pm$ 2,3
Gruppe 4:	4 • 1000 mg Testosteronönanthant			
	25	378	370	86
	26	386	500	78
	27	395	365	84
	28	414	495	75
	29	422	390	94
	30	428	510	90
	31	435	370	78
	32	461	600	92
	Gruppenmittelwert und Streuung:			84,6 $\pm$ 2,5

Abbildung 5: Anz. d. Kerne in %



Eine gewisse Übereinstimmung mit dem Befund der Regression der Zellkernvolumina durch die Einwirkung der Sexualhormone kommt auch beim Hodengewicht zum Ausdruck. Jedoch besteht im Gegensatz zum Gruppenvergleich keine lückenlose Parallelität bei der Betrachtung der Einzeltiere in Hodengewicht und LEYDIG-Kernvolumen. Mit diesem Versuch konnte die Anwendbarkeit der Methodik und auch die Beeinflussungsmöglichkeit der LEYDIG-Zellkerne durch Androgene und Östrogene beim Bullen unter Beweis gestellt werden.

B.) Versuche mit den Vitaminen A und E

5. Versuch: Wirkung von Vitamin E auf weibliche Rattengonaden.

Für den ersten Versuch, in dem α -Tocopherol in Form eines wasserlöslichen Präparates zur Anwendung kam, dienten 7 Tiere als Versuchsratten und ebensoviele als unbehandelte Kontrollen. Es wurden juvenile, weibliche Tiere von ca. 40 g Körpergewicht eingesetzt, wobei wiederum Wurfgeschwister zum Vergleich dienten.

In der Tabelle V sind die in diesem Versuch ermittelten Uterusgewichte und Zellkernvolumina der interstitiellen Ovarzellen (aus jeweils 200 gemessenen Kerngrößen pro Tier gemittelt) angeführt.

TABELLE V

Tocopherol-Versuch bei weiblichen Ratten.
Versuchsdauer 4 Tage

	Wurfnr.	Tiernr.	Uterusgew. (mg)	IC-Vol. (μ^3)
Gruppe 1:	Kontrolle			
	36	97	155	67
	36	99	115	79
	38	36	165	52
	38	38	115	97
	56	90	120	75
	56	92	95	75
	57	85	145	85
	Gruppenmittelwert und Streuung:			$75,7 \pm 5,3$
Gruppe 2:	3 mg -Tocopherol			
	36	25	135	78
	36	59	140	56
	36	98	165	52
	38	37	175	111
	38	39	80	91
	56	93	80	63
	57	86	120	72
	Gruppenmittelwert und Streuung			$74,7 \pm 7,9$

Wie die Werte aus Tabelle V zeigen, konnte mit VE in dieser Form und Applikationsart kein Einfluß auf die Interstitialzellen von Ovarien festgestellt werden. Auch die Uterusgewichte der Versuchstiere sind gegenüber denen der Kontrolltiere nicht signifikant verändert. Als Nebentbefund war zu bemerken, daß Wurfgeschwister geringer streuende Zellkerngrößen aufwiesen als Tiere mit vergleichbarem Körpergewicht, die aber aus verschiedenen Würfen stammten.

6. Versuch: Wirkung von Vitamin-E-Präparaten sowie Vitamin-A-Zusatz auf weibliche Rattengonaden.

In einer weiteren Versuchsserie, ähnlich der vorhergegangenen, kamen unter-

schiedliche Präparate und Applikationsarten von Vitamin - E zur Anwendung. Bei einer Gruppe war das wasserlösliche Vitamin - E - Präparat durch Vitamin - A - Zusatz ergänzt.

Es wurden 15 Ratten im Gewicht von 52 - 84 g in 3 Gruppen zu je 5 Tieren eingeteilt. Die erste Gruppe bekam an 4 Tagen je 2 mg VE-Azetat i.m., die zweite Gruppe 2 mg wasserlösliches VE i.p., die dritte Gruppe ein Gemisch von 1 mg wasserlöslichen VE und 100 Einheiten VA i.p. appliziert.

Die Versuchsergebnisse (Wurfnummer, Tiernummer, Körpergewicht und Mittelwerte der aus 200 Messungen erhaltenen Interstitialzell-Kernvolumina) sind in Tabelle VI zusammengefaßt.

Es zeigt sich, daß die Kerngrößen keine signifikanten Unterschiede zwischen den 3 Gruppen erkennen lassen. Es besteht vielmehr eine gruppenunabhängige Streuung der Kerngrößen. Eine genauere Betrachtung der Wurfgeschwister läßt die Tendenz erkennen, daß die Werte für Kernvolumina bei Wurfgeschwistern enger liegen als bei gewichtsgleichen Tieren verschiedener Würfe.

7. Versuch: Wirkung von VE-Präparaten sowie VA-Zusatz auf männliche Rattengonaden.

In ähnlicher Versuchsanlage, wie unter Nr. 6 besprochen, wurde das Kombinationspräparat Vitamin - E und Vitamin - A auch bei männlichen Tieren in seiner Wirkung auf das Interstitium getestet.

TABELLE VI

Kombinierter Vitamin E- und A-Versuch bei weiblichen Ratten.
Versuchsdauer 4 Tage

	Wurfnr.	Tiernr.	Körpergew. (g)	IC-Vol. (μ^3)
Gruppe 1:	2 mg VE-Azetat			
	558	501	59	38
	3	521	68	61
	17	693	59	62
	41	524	76	44
	41	528	64	48
	Gruppenmittelwert und Streuung:			50,6 $\pm$ 4,7
Gruppe 2:	2 mg wasserlösliches VE			
	558	502	55	38
	3	518	71	64
	17	535	57	37
	41	526	84	38
	41	530	66	66
	Gruppenmittelwert und Streuung:			50,6 $\pm$ 6,8
Gruppe 3:	1 mg wasserlösliches VE + 100 Einheiten VA			
	558	504	52	41
	558	508	55	49
	3	516	61	64
	17	692	54	81
	41	523	76	74
	Gruppenmittelwert und Streuung:			61,8 $\pm$ 7,5

Es erhielten 5 Ratten einmalig eine Dosis von 1 mg wasserlöslichen VE+100 Einheiten VA. Diesen standen 5 Ratten als Kontrolltiere gegenüber. Alle Tiere wogen zwischen 58 und 76 g.

Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 7 zusammengefaßt.

TABELLE VII

Kombinierter Vitamin E- und A-Versuch bei männlichen Ratten.
Versuchsdauer 4 Tage

Wurfnr.	Tiernr.	Körpergew. (g)	IC-Vol. (μ^3)
Gruppe 1: Kontrolle			
558	503	63	51
558	548	61	35
3	517	64	58
17	531	58	43
41	547	73	62
Gruppenmittelwert und Streuung:			49,8 $\pm$ 4,9
Gruppe 2: 1 mg VE + 100 Einheiten VA			
558	506	58	67
3	519	69	36
3	156	60	48
17	533	68	30 (Hoden sehr klein)
41	529	76	71
Gruppenmittelwert und Streuung:			50,4 $\pm$ 8,2

Die in Tabelle VII zusammengefaßten Werte aus den ermittelten Kernvolumina lassen keinen eindeutigen Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrolltieren erkennen. Es zeigt sich eine zufällige, von der Versuchsanstellung unabhängige Streuung der Ergebnisse.

C.) Versuch mit Chlortetracyclin und Cortison

8. Versuch: Wirkung von Chlortetracyclin und Cortison auf weibliche Rattengonaden
Bei Anwendung des Antibioticums Chlortetracyclin ($\approx$ Aureomycin) und des Neben-

nierenrinden-Präparates Cortison waren von vornherein keine unmittelbaren, spezifischen, d.h. gonadotropinähnlichen Effekte zu erwarten. Daß Ovarien aus einer Versuchsserie ausgewertet werden sollten, in der sowohl Aureomycin als auch Cortison zur Anwendung kamen, entsprach dem Materialanfall aus einer Versuchsanordnung anderer Fragestellung (siehe 24). Beide Mittel fanden in einem Wachstumsversuch an Ratten als Vertreter einer typisch anabol (Chlortetracyclin) und einer typisch katabol (Cortison) wirkenden Substanz Anwendung. Im Rahmen der Fragestellung "Auswirkung des Wachstumseinflusses auf Gonaden" erschien die Auswertung des Materials besonders interessant, nachdem sich die erwarteten Körpergewichtsunterschiede bei der Chlortetracyclin-Zusatzgruppe signifikant gezeigt hatten.

Der Versuch umfaßte vier Gruppen mit insgesamt 25 weiblichen Ratten, die bei Versuchsende Körpergewichte von 61-110 g erreicht hatten.

7 Ratten erhielten 14 Tage lang 0,5 mg Scheroson pro die subcutan. Ebenfalls 14 Tage lang erhielten 5 Ratten 0,02 %, 7 Ratten 0,1 % Aureomycin pro die im Futter. 6 Tiere blieben zur Kontrolle unbehandelt.

Die Ergebnisse sind in Tabelle VIII zusammengefaßt.

Die mittleren Körpergewichte betragen bei den Kontrolltieren 81 g, gegenüber den Cortison-Tieren mit 74 g. Bei den Aureomycin-Tieren liegen sie bei 93 g (0,02 %), bzw. 95 g (0,1 %), was der bekannten, wachstumsfördernden Eigenschaft der Antibiotica entspricht.

Bei den Ergebnissen der Zellkernvolumen-Messung fällt die eindeutige Regression aller Werte bei der Cortisongruppe auf. Demgegenüber lagen die Volumina der Interstitialzellkerne für beide Aureomycingruppen im Mittel nur ganz geringgradig und innerhalb der Fehlergrenze über den Ergebnissen der Kontrolltiere. Ein Einfluß des Antibioticum-Futtersupplementes konnte somit nicht nachgewiesen werden.

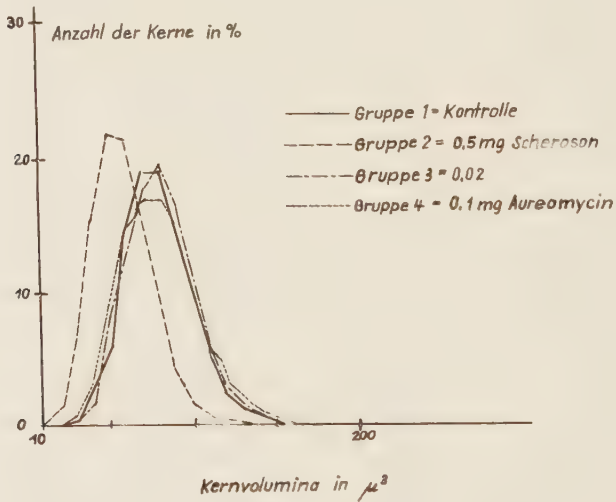
TABELLE VIII

Chlortetracyclin- und Cortison-Versuch bei weiblichen Ratten.
Versuchsdauer 14 Tage

Tiernr.	Körpergew. (g)	IC-Vol. (μ^3)
Gruppe 1: Kontrolle		
180	87	72
161	64	83
163	79	88
175	74	80
114	94	69
148	89	<u>78</u>
Gruppenmittelwert und Streuung: 78,3 $\pm$ 2,8		
Gruppe 2: 0,5 mg Cortison		
164	64	63
171	66	54
174	71	53
141	71	58
125	61	59
149	85	67
183	100 (!)	<u>55</u>
Gruppenmittelwert und Streuung: 58,4 $\pm$ 2,0		
Gruppe 3: 0,02 % Aureomycin		
182	76	79
119	97	77
136	93	77
181	98	83
150	100	<u>84</u>
Gruppenmittelwert und Streuung: 80 $\pm$ 1,5 (geringe Streuung)		
Gruppe 4: 0,1 % Aureomycin		
157	93	90
144	85	68
122	95	86
134	81	70
153	94	87
167	110	77
140	109	<u>83</u>
Gruppenmittelwert und -Streuung: 80,1 $\pm$ 3,3		

In Abbildung 6 sind die Kernvolumina der einzelnen Gruppen dieses Versuches in einer Häufigkeitsverteilungskurve dargestellt.

Abbildung 6:



V. DISKUSSION

In vorliegender Arbeit wurde versucht den Einfluß der für den Sexual-Funktionskreis spezifischen und unspezifischen Wirkstoffe auf die Interstitialzellen männlicher und weiblicher Gonaden zu prüfen. Als quantitatives Auswertungsverfahren kam dabei die von der TONUTTI'schen Schule erarbeitete, karyometrische Technik für diese Zellen zur Anwendung. Die Progression der Kerngrößen unter dem Einfluß eines Choriogonadotropin-Präparates konnte bestätigt werden. Damit wird auf die Abhängigkeit dieser Zellarten von der hypophysären ICSH-Wirkung hingewiesen.

Weitere Untersuchungen erstreckten sich darauf, inwiefern exogen zugeführte Sexualhormone die endogene ICSH-Komponente hemmen würden. In Anlehnung an die bekannte Auffassung von dem endokrinen Regelmechanismus im Sexualhormonkreis (HOHLWEG 1) kam auch bei unseren Versuchen mit bestimmten Präparaten und Dosierungen dieser Effekt zum Ausdruck. Für den Befund einer geringeren Regression der Gonaden-Interstitialzellen bei weiblichen und männlichen Ratten nach Anwendung eines Testosteron-Präparates höherer Dosierung gegenüber der niedrigeren, wird von KARG (24) für möglich erachtet, daß durch ein hohes Steroid-Überangebot eine Aktivierung der peripheren, Steroid-produzierenden Zellen, bei niedrigem Ausgangswert derselben, denkbar ist.

Die ICSH-hemmende Wirkung zugeführter Androgene und Östrogene konnte auch in einem Jungbullenversuch für diese Tierart bewiesen werden. Darüber wurde bereits an anderer Stelle auszugsweise von uns berichtet (KARG, KRONTHALER 98).

Die von verschiedenen Autoren postulierten Zusammenhänge zwischen Vitamin A und Vitamin E und der Keimdrüsenfunktion konnten bei den eigenen Versuchen, bei Anwendung des spezifisch gonadotropin-abhängigen Kriteriums der Interstitialkernmessung, für diese Reaktion nicht gefunden werden. Es dürfte sich also wohl bei einer eventuellen Vitamin A- und Vitamin E-Wirkung auf Gonaden nicht um eine Beeinflussung der ICSH-Komponente der gonadotropen Hormone handeln (siehe auch IGEL (99) hinsichtlich der FSH-Aktivität und Vit. E-Wirkung).

In Einschränkung dieser Aussage ist jedoch zu berücksichtigen, daß die Versuche an gesunden Ratten (d. h. nicht im VA- oder VE-Mangel stehenden

Tieren) gemacht wurden und daß die Finwirkungszeit (4 Tage) verhältnismäßig kurz war. Die Ergebnisse stehen jedoch in Übereinstimmung mit Befunden von SCHRAMM (61), der bei Anwendung ähnlicher Präparate keine, mit einer akuten Gonadotropin-Wirkung vergleichbaren Effekte gefunden hatte. Wir neigen daher zu der Auffassung, daß ein eventuelles Eingreifen der genannten, fettlöslichen Vitamine in den Zellstoffwechsel der Geschlechtsorgane eher als unspezifisch, ubiquitär als im Sinne einer spezifischen, ("endokrinen") Regulation zu verstehen sei.

In signifikanter Weise erwies sich ein Cortison-Präparat bei Interstitialzellen als regressionsbewirkend. Es dürfte anzunehmen sein, daß das Cortison mit seinem hypophysären Hemmeffekt auf die ACTH-Ausschüttung auch die Gonadotropin-Sekretion in Mitleidenschaft zieht. Es läge also mit dieser Hormonwirkung ein Eingreifen in den spezifischen, endokrinen Regulationskreis vor (siehe auch KARG 24).

Demgegenüber konnten bei den Aureomycin-Gruppen keine eindeutigen Beeinflussungen der Meßwerte beobachtet werden. Ein unmittelbares Eingreifen dieser wachstumsfördernden Substanz auf die endokrine Gonadenregulation dürfte bei den angewandten, niedrigen Dosierungen abzulehnen sein. Etwaige Feststellungen der Akzeleration auch im Genitalbereich durch gonadenunspezifische, anabole Substanzen sind möglicherweise im Zusammenhang mit nutritiven Effekten (z.B. bei reichlicherer Eiweißzufuhr - siehe auch BRÜGGMANN und ZUCKER 79) zu diskutieren.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

- 1.) In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung von spezifischen Hormonen (Androgene und Östrogene), der fettlöslichen Vitamine A und E, von Cortison und von einem Antibioticum (Chlortetracyclin) auf den interstitiellen Zellbereich weiblicher und männlicher Gonaden von Ratten und in einem Falle von Bullen geprüft.
- 2.) Das Beurteilungskriterium war das quantitative karyometrische Verfahren nach TONUTTI zur Ermittlung von Durchschnittsvolumina aus, in der Regel, 200 Einzelmessungen pro Präparat von Interstitialzellkernen.
- 3.) Der Einfluß von Choriongonadotropin im Sinne einer Progression und die regressionbewirkende Eigenschaft von Testosteron und Östradiol auf die Interstitialzellen von Gonaden ergaben karyometrisch erfaßbare Werte.
- 4.) Zusammenhänge zwischen den fettlöslichen Vitaminen A und E und der Keimdrüsenfunktion konnten bei Anwendung des spezifisch gonadotropin-abhängigen Kriteriums der Interstitialkernmessung nicht gefunden werden.
- 5.) Nach Applikation von Cortison an Ratten konnte in signifikanter Weise eine Regression der interstitiellen Zellen beobachtet werden. Hingegen war ein karyometrisch erfaßbarer Einfluß von Chlortetracyclin auf das Interstitium nicht beobachtet worden.

SUMMARY

- 1.) In this material, the effects of specific hormones (androgens and oestrogens), of the vitamins A and E, of Cortison and of the antibiotics (Chlortetracyclin) on the interstitial cell-size of female and male gonads of rats and in one case of bulls was studied.
- 2.) The criterium of judgement was the quantitative caryometric method after TONUTTI to find out the average volumes, regularly 200 single measures by microscopical slide of interstitial cell-nuclei.
- 3.) The influence of Choriongonadotropin in the sense of a progression and the cause and quality of the regression by Testosterone and Oestradiol on the interstitial cells of gonads yielded sizable values.
- 4.) Connections between vitamins A and E and the function of gonads, by application of the specific gonadotropindependent criteriums of the interstitial-nuclei-measurement could not be found.
- 5.) After application of Cortison on rats it was able to observe in a significant way a regression of the interstitial cells. In contrast a caryometric sizable influence of Chlortetracyclin on the interstitial cells could not be observed.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

1. Hohlweg, W.: Das dtsh. Gesundheitswesen 11, 245 (1956).
2. Tonutti, E.: Verhandlungen d. Anat. Ges. auf d. 52. Versammlung in Münster 1954. Jena: G. Fischer V. S.125-140.
3. Roosen - Runge, E.C.: Am. J. Anat. 88, 163 (1951).
4. Trautmann, A.,
Fiebiger, J.: Lehrbuch d. Histologie u. vergl.mikroskop. Anatomie d. Haustiere. Berlin: Parey V. 1949, S. 242.
5. Fetzer, S.,
Hillebrecht, J.,
Muschke, H. E.,
Tonutti, E.: Z. f. Zellforschung 43, 404-420 (1955).
6. Fetzer, S.: Endokrinologie 34, 213 (1957).
7. Stanley - Pederson, E.: Am. J. Anat. 88, 397 (1951).
8. Junkmann, K.: 1. Symposion Dtsch. Ges. f. Endokrinologie 1953. Berlin: Springer V. 1955, S. 187.
9. Nelson, W.: Rec. Progr. Horm. Res. 12, 377 (1956).
10. Pedersen, J.,
Hamburger, C.: Acta endocrinol. 13, 109 (1953).
11. Leidl, W.: Habil. med. vet. München 1957.
12. Pollock, W. F.: Anat. Rec. 84, 23 (1942).
13. Romeis, B.: Anat. Anz. 94, 401 (1943).

14. Tonutti, E.: 1. Symposion Dtsch. Ges. f. Endokrinologie 1953.
Berlin: Springer V. 1955, S.144-146 u.S.169.
15. Forbes, A.P.: Le Fonction Endocrine du Testicule Sympos.
Paris 1957, S.109.
16. Labhart, A.: Klinik der inneren Sekretion
Berlin: Springer V. 1957.
17. Tonutti, E.: Normale Anat. d. endokrinen Drüsen u. endo-
krinen Regulat.
In: Kaufmann, E.: Lehrb. d. speziellen patho-
log. Anat.
Berlin: de Gruyter 1955, Bd.1, S.1285-1425.
18. Cleason, L.,
Hillarp, N.,
Högberg, B.: Acta physiol. scand. 29, 329 (1953).
19. Zander, J.: Nature S. 406 (1954).
20. Shippel, S.: J. Obstetr. 57, 362 (1950).
21. Dhom, G.: Z. f. Geburtshilfe 142, 182-289 (1954).
22. Junkmann, K.: Ärztl. Wochenschr. 9, H. 13 (1954).
23. Werth, G.: Arzneimittelforschung
5, 409-421, 735-746 (1955); 6, 79-94, (1956).
24. Karg, H.: Habil. med. vet. München 1958.
25. Buddenbrock, W.: Vergleichende Physiologie, Bd.4: Hormone.
Basel: Birkhäuser V. 1950.
26. Kehl, R.,
Molina, C.: Ann. d'Endocrinol. Paris 10, 383 (1949).

27. Markee, J.E.,
Sawyer, C.H.,
Hollinshead, W.H.:
Recent Progress in Hormone Research, Bd. 2.
New York: Acad. Press. Inc. Publ. 1948.
28. Riddle, O.,
Bates, R.W.,
Lahr, E.I.,
Moran, C.S.:
Am. J. Physiol. 116, 128 (1936).
29. Stricker, P.,
Grueter, F.:
Compt. Rend. Soc. Biol. Paris 99, 1978 (1928).
30. Stricker, P.,
Grueter, F.:
Presse Médicale 37, 1268 (1929).
31. Muschke, H.E.:
Endokrinologie 30, 281 (1953).
32. Herchen, H.:
Endokrinologie 31, 184 (1954).
33. Fetzer, S.,
Hillebrecht, J.,
Muschke, H.E.:
Die Naturwissenschaften 42, 302 (1955).
34. Maurus, P.:
Diss. med. vet. München 1959.
35. Hüter, F.:
Z. f. Naturforschung 2b, 414 (1947).
36. Stähler, F.,
u. Mitarb.:
Arch. Gynäkol. 174, 236 (1942).
37. -
Literaturzusammenfassung über VE in der
Tierernährung.
Basel: Hoffmann-La Roche 1959.
38. Adamstone, F.B.,
Krider, J.L.,
James, M.F.:
Ann. N.Y. Acad. Sci. 52, 260 (1949).

39. Piana, G.: Riv. Zootec. 24, 293 (1951).
40. Brinkhou, K.M.: Am. J. Path. 17, 81 (1941).
Warnta, F.D.
41. Adamstone, F.B.: Anat. Rec. 84, 499 (1942).
42. Adamstone, F.B., J. Morphol. 56, 339 (1934).
Card, L.E.:
43. Herrick, E.H., Proc. Soc. Expt. Biol. Med. 79, 441 (1952).
Eide, I.M.,
Snow, M.R.:
44. Beckmann, R.: Z. f. Vitamin-, Hormon- u. Fermentforschung
7, H. 2/3 (1955).
45. Neumann, H.O., Med. Klin. 21, 483 (1942);
Rosinsky, O.E.: 36, 843 (1942).
46. Bonadonna, T., Zootec. Vet. 9, 148 u. 206 (1954).
Kaan, I.:
47. Darlington, F.G., Summary 8, 1 u. 55 (1956).
Chassels, J.B.:
48. Fey, W., Schweiz. Arch. Tierheilk. 90, 113 (1948).
Thommann, H.E.:
49. Dimitropoulus, E.: Bull. Inst. Agron. Gembloux 18 (1950).
50. Merk, Wh. B.: Schweiz. Landwirtschaftl. Mh. 34, 79 (1956).
51. Darlington, F.G., Summary 9, 64 (1957).
Chassels, J.B.:
52. Evans, H.M., Science 56, 650 (1922).
Bishop, S.:

53. Tagwerker, F.: Kraftfutter.Mz. f. d. Futtermittelwirtsch. 42, 80 (1959).
54. Stähler, F., Arch. Gynäkol. 171, 134 (1941).
Pehl, B.:
55. Stähler, F., Klin. Wochenschr. 21, 58 (1942).
Hopp, W.:
56. Winkler, H.: Zbl. Gynäkol. 67, 32 (1943).
57. Massenbach, W., Zbl. Gynäkol. 74, 25 (1952).
u. Mitarb.:
58. Brüggemann, J., Vit. Hormone 7, 10 (1956).
Niesar, K.H.:
59. Ottolenghi - Preti, F.G.: Zbl. Gynäkol. 78, 807 (1956).
60. Brüggemann, J., Tierärztl. Umsch. 5, 143 (1957).
Niesar, K.H.,
Floegel, C.,
Graf, R.:
61. Schramm, W.: Diss. med. vet. München 1958.
62. Shermann, C., J. Am. Chem. Soc. 47, 1658 (1925).
Leod, Mc L.:
63. Gross, L.: J. Path. Bact. 27, 27 (1924).
64. Wolbach, S.B., J. Exp. Med. 42, 753 (1925).
Howe, P.R.:
65. Truscott, B.L.: Anat. Rec. 98, 111 (1947).
66. Mason, K.E.: Am. J. Anat. 52, 153 (1933).
67. Salisbury, G.W., J. Nutr. 52, 217 (1954).
Lamming, G.E., Hays, R.L.,
Kendall, K.A.:

68. Goetze, R.: Besamung und Unfruchtbarkeit d. Haustiere.
Hannover: Schaper (1949).
69. Gaethgens, G.: Vit. u. Horm. 4, 1 (1954).
70. Hale, F.: Am. J. Ophthalmolog. 18, 1087 (1935).
71. Lenkeit, W.: Einf. in d. Ernährungsphysiol. d. Haustiere.
Stuttgart: Enke 1953.
72. Domanski, E.,
Dobrowolska, D.,
Zalewska, E.: Vit. u. Horm. 7, 249 (1957).
73. Brüggemann, J.,
Niesar, K.H.: Vit. u. Horm. 7, 419 (1957).
74. Niesar, K.H.: Die Naturwissensch. 42, 392 (1955).
75. Schulz, H.: Diss. med. vet. München 1956.
76. Stöckl, R.: Diss. med. vet. München 1956.
77. Stokstad, E.L.R.,
Jukes, T.H.,
Pierce, J., Page, A.C.,
Franklin, A.L.: J. Biol. Chem. 180, 647 (1949).
78. Brüggemann, J.: Die Antibioticaanw. in d. Tierernährung.
Ref., geh. Lübeck, 24.6.59.
Hektogr. Ms.
79. Brüggemann, J.,
Zucker, H.: Z. f. Tierernährung u. Futtermittelkunde
11, 65 (1956).
80. Baier, W.: Die Bedeutung d. Antibiotica in d. Tierer-
nährung u. Lebensmittelhyg. unter bes. Be-
rücks. v. Aureomycin.
In: Internat. Sympos., S. 92, Wien 1956.

81. Byrnes, W.,
Shipley, E.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 74, 308 (1950).
82. Courrier, R.: Ann. d'Endocrinol. 15, 1 (1954).
83. Overzier, C.: Virchows Arch. 321, 559 (1952).
84. Nowakowsky, H.: 1. Sympos. Dtsch. Ges. Endocrin. 1953.
Berlin: Springer 1955, S. 223.
85. Leroy, P.,
Domm, L.: C. r. Acad. Sci. 234, 2230 (1952).
86. Maddock, W.,
Chase, J.,
Nelson, O.: J. Labor. Clin. Med. 41, 608 (1953).
87. Wilkins, L.,
Gardner, L. T.,
Grigler, J. F.,
Silvermann, S. H.,
Mingeon, C. J.: J. Clin. Endocrinol. 12, 257 (1952).
88. Talalay, P.,
Dobson, M., Ebersoll, C.,
Huggins, C.: Endocrinology 50, 574 (1952).
89. Szego, C. M.: Endocrinology 50, 429 (1952).
90. Smith, R.: Endocrinology 56, 567 (1955).
91. Aterman, K.,
Greenberg, S. M.: Lancet 1, 545 (1952).
92. Brüggemann, J.,
Barth, K., Karg, H.: Z. f. Tierphysiologie, Tierernährung u.
Futtermittelkunde 13, 367 (1958).
93. Federlin, K.,
Köster, E.: Frankf. Z. Pathologie 65, 493 (1954).

94. Romeis, B.: Taschenbuch d. mikroskop. Technik.
München: Leibniz 1948.
95. Boguth, W., Med. Welt 20, 408 (1951).
Langendorff, H.,
Tonutti, E.:
96. Mudra, A.: Einf. i. d. Methodik d. Feldversuche.
Stuttgart: Hürzel 1952.
97. Waerden, B.L. van der: Mathemat. Statistik, Bd. 87.
Berlin, Göttingen, Heidelberg:
Springer.
98. Karg, H., Zuchthygiene, Fortplanzungsstörungen u.
Kronthaler, O.: Besamung d. Haustiere 1, 352 (1957).
99. Igel, H.: Das dtsh. Gesundheitswesen 12, 160 (1958).

Herrn Professor Dr. Dr. Johannes Brüggemann möchte ich für die Überlassung des Themas und die jederzeit gewährte Unterstützung in seinem Institut meinen Dank sagen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Privatdozenten Dr. Heinrich Karg für wissenschaftliche Anregungen und viele wertvolle Hinweise in stets gewährten Diskussionen.

LEBENS LAUF

Als Sohn des Eisenbahnersekretärs Josef Kronthaler und seiner Ehefrau Maria, geborene Ostermair, wurde ich am 29. April 1933 in München geboren.

In meiner Heimatstadt besuchte ich die Volksschule und anschließend die städtische Oberrealschule für Jungen in Garmisch-Partenkirchen. Nach Kriegsende wechselte ich 1946 in die Ludwigoberrealschule in München über, wo ich 1954 das Abitur bestand.

Im Herbst des gleichen Jahres begann ich an der Universität München das Studium der Veterinärmedizin, das ich am 18. August 1959 mit dem tierärztlichen Staatsexamen beendete.

Die Arbeiten zur vorliegenden Dissertation wurden im Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere unter Leitung von Herrn Professor Dr. Dr. Johannes Brüggemann im September 1956 begonnen und im November 1959 abgeschlossen.

